

5.3.N.1. СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ХІМІЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ^N

ЗМІСТ

1. ВИБІРКА

- 1.1. Середнє значення та стандартне відхилення
- 1.2. Перевірка однорідності вибірки. Виключення значень варіант, що випадають
 - 1.2.1. Вибірки, малі за обсягом
 - 1.2.2. Вибірки, великі за обсягом
 - 1.2.3. Загальні зауваження щодо ідентифікації варіант, що випадають
- 1.3. Об'єднання вибірок
 - 1.3.1. Об'єднана дисперсія й об'єднане середнє
 - 1.3.2. Критерій Бартлета
 - 1.3.3. Критерій Кокрена
- 1.4. Довірчі інтервали й оцінка їх величини
- 1.5. Однобічні та двобічні довірчі інтервали

2. МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ АНАЛІЗУ

- 2.1. Представлення метрологічних характеристик
- 2.2. Формулювання аналітичної задачі
- 2.3. Особливості контролю якості лікарських засобів за показником «Кількісне визначення»
 - 2.3.1. Загальні положення
 - 2.3.2. Доказовий підхід
 - 2.3.3. Підтверджуючий підхід
- 2.4. Оцінка значущості систематичної похибки
 - 2.4.1. Статистична значущість систематичної похибки
 - 2.4.2. Практична значущість систематичної похибки
 - 2.4.2.1. Принцип незначущості
 - 2.4.2.2. Критерій практичної незначущості систематичної похибки

3. ПОРІВНЯННЯ ДВОХ МЕТОДИК АНАЛІЗУ ЗА ВІДТВОРЮВАНІСТЮ

4. МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЕРЕДНЬОГО РЕЗУЛЬТАТУ

5. ПОРІВНЯННЯ СЕРЕДНІХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДВОХ ВИБІРОК

- 5.1. Розходження дисперсій σ^2 і σ_0^2 статистично невірогідно
- 5.2. Розходження дисперсій σ^2 і σ_0^2 статистично вірогідно
- 5.3. Відоме точне значення величини A
- 5.4. Використання довірчих інтервалів

6. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

- 6.1. Оцінка збіжності результатів паралельних випробувань
- 6.2. Забезпечення якості результатів
 - 6.2.1. Кваліфікація мірного посуду
 - 6.2.2. Придатність хроматографічної системи
- 6.3. Гарантія якості продукції
 - 6.3.1. Метрологічно атестована методика
 - 6.3.2. Валідована методика
 - 6.3.3. Урахування факторів неоднорідності для дозованих одиниць
- 6.4. Оцінка результатів тестування
 - 6.4.1. Розрахунок метрологічних характеристик міжлабораторної вибірки
 - 6.4.2. Оцінка якості результатів учасників тестування
 - 6.4.3. Внутрішньолабораторне тестування
 - 6.4.4. Зовнішнє тестування
 - 6.4.4.1. Використання метрологічних характеристик результатів вибірки учасників
 - 6.4.4.2. Використання максимально допустимої невизначеності методики аналізу
 - 6.4.4.2.1. Наявність загальної систематичної похибки результатів учасників
 - 6.4.4.2.2. Загальна характеристика якості результатів учасників

7. РОЗРАХУНОК І СТАТИСТИЧНА ОЦІНКА ПАРАМЕТРІВ ЛІНІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ

8. ПРИКЛАДИ

- 8.1. Обчислення середнього значення та дисперсії
- 8.2. Перевірка однорідності вибірки малого обсягу
- 8.3. Обчислення довірчих інтервалів і невизначеностей вимірювань
- 8.4. Перевірка гіпотези рівності дисперсій
 - 8.4.1. Об'єднання результатів вибірок, різних за обсягом
 - 8.4.2. Об'єднання результатів вибірок, однакових за обсягом
- 8.5. Порівняння двох методик аналізу за точністю і правильністю результатів. Статистична і практична значущість систематичної похибки
 - 8.5.1. Збіжність та наявність статистично значущої систематичної похибки
 - 8.5.2. Наявність практично значущої систематичної похибки
- 8.6. Порівняння середніх результатів двох вибірок
 - 8.6.1. Використання дисперсій
 - 8.6.2. Використання максимально допустимої невизначеності
- 8.7. Забезпечення якості результатів
 - 8.7.1. Кваліфікація градуйованої піпетки місткістю 5 мл
- 8.8. Гарантуючі допуски
 - 8.8.1. Метрологічно атестована методика
 - 8.8.2. Валідована методика
 - 8.8.3. Урахування факторів неоднорідності для дозованих одиниць
 - 8.8.4. Граничні допуски вмісту за специфікацією для дозованих одиниць
- 8.9. Оцінка результатів тестування
 - 8.9.1. Внутрішньолабораторне тестування персоналу за результатами верифікації градуйованої піпетки місткістю 5 мл
 - 8.9.2. Зовнішнє тестування: визначення вмісту домішки В лінкоміцину в субстанції лінкоміцину методом ВЕРХ

9. РОЗРАХУНОК НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКІЛЬКОХ ВИПАДКОВИХ ЗМІННИХ

- 9.1. Лінійна модель
 - 9.1.1. Зважене середнє
- 9.2. Підхід Уелча — Сатертуейта
- 9.3. Приклади розрахунків невизначеності функції декількох змінних
 - 9.3.1. Розрахунок невизначеності аналізу готового лікарського засобу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)
 - 9.3.2. Прогноз невизначеності спектрофотометричного аналізу готового лікарського засобу
 - 9.3.3. Розрахунок середнього значення декількох нерівноточних вибірок

10. ДОДАТОК

Таблиця 10.1. Числові значення контрольного критерію $Q(P, n)$

Таблиця 10.2. Числові значення критерію Стьюдента $t(p, \nu)$

Таблиця 10.3. Відсоткові точки розподілу $\chi^2(P_1, \nu)$

Таблиця 10.4. Критерій Кокрена

Таблиця 10.5. Відсоткові точки розподілу Фішера ($F(P_1, \nu_1, \nu_2)$ — розподіл)

Таблиця 10.6. Відсоткові точки вибіркового коефіцієнта кореляції r

ПРИЙНЯТІ ПОЗНАЧЕННЯ

У цій статті для переважного використання прийняті такі позначення:

A	вимірювана величина;
a	вільний член лінійної залежності;
b	кутовий коефіцієнт лінійної залежності;
F	критерій Фішера;
$f(x, \mu, \sigma)$	функція щільності ймовірності нормального розподілу;
H_0	нульова гіпотеза;
H_1	альтернативна гіпотеза;
i	порядковий номер варіанти;
L	фактор, використовуваний при оцінці збіжності результатів рівнобіжних визначень;
m, n	об'єми вибірки;

p	ймовірність;	\mathbf{I}, \mathbf{U}	середні значення вибірки (координати центра лінійної залежності);
P	довірча ймовірність без конкретизації постановки завдання, у відсотках;	x_i, y_i	i -та варіанта (i -та пара експериментальних значень x та y);
P_2, P_1	довірча ймовірність відповідно при дво- й однобічному завданні, у відсотках;	$\mathbf{I} \pm \Delta_x$	граничні значення довірчого інтервалу середнього результату;
Q_1, Q_n	контрольні критерії для ідентифікації грубих похибок;	$x_i \pm \Delta_x$	граничні значення довірчого інтервалу результату одиничного визначення;
R	розмах варіювання;	\mathbf{Y}	критична статистика;
R_c	загальний індекс кореляції;	Δ_x	напівширина довірчого інтервалу одиничного визначення;
r	(лінійний) коефіцієнт кореляції;	Δ_x	напівширина довірчого інтервалу середнього результату;
$RSD = s_r \times 100 \%$	відносне стандартне відхилення, у відсотках;	Δ_x	напівширина довірчого інтервалу середнього результату;
$RSD_x = s_{x,r} \times 100 \%$	відносне стандартне відхилення середнього результату, у відсотках;	$\Delta_{x,r}$	напівширина відносного довірчого інтервалу одиничного визначення;
RSD_p	об'єднане відносне стандартне відхилення, у відсотках;	$\Delta_{s,r}$	напівширина відносного довірчого інтервалу середнього результату;
s	стандартне відхилення;	$\Delta_{As,r}$	сумарна невизначеність аналізу;
s_r	відносне (щодо середнього результату) стандартне відхилення;	$\Delta_{FAO,r}$	невизначеність кінцевої аналітичної операції;
s^2	дисперсія;	$\Delta_{RS,r}$	невизначеність атестації стандартного зразка;
s_x^2	відносна дисперсія;	$\Delta_{SP,r}$	невизначеність пробопідготовки;
s_x	стандартне відхилення середнього результату;	δ	відносна величина систематичної похибки;
$s_{x,r}$	відносне (щодо середнього результату) стандартне відхилення середнього результату;	ε, \mathbf{E}	відносні невизначеності відповідно результату окремого визначення і середнього результату;
s_{lg}	логарифмічне стандартне відхилення;	μ	справжнє значення вимірюваної величини;
s_{lg}^2	логарифмічна дисперсія;	ν	число ступенів свободи; перемінний обсяг вибірки при послідовному аналізі;
$s_{lg,r}$	логарифмічне стандартне відхилення середнього результату;	ν_p	об'єднане число ступенів свободи;
s_p	об'єднане стандартне відхилення;	ν_{eff}	«ефективне» число ступенів свободи в підході Уелча-Сатертуейта;
s_x^2, s_y^2, s_{xy}^2	загальна дисперсія та дисперсія коефіцієнтів лінійної залежності;	Σ	знак підсумовування (сума);
t	критерій Стюдента;	σ	стандартне відхилення генеральної сукупності;
x, y	поточні координати в рівнянні лінійної залежності;	σ^2	дисперсія генеральної сукупності;
X_i, Y_i	значення змінних x та y , обчислені з рівняння лінійної залежності;		

Метрологічні характеристики методик і результатів, одержуваних при статистичній обробці даних експерименту, дозволяють проводити оцінку та порівняння як експериментальних методик, так і досліджуваних об'єктів і на цій підставі розв'язувати низку прикладних задач, пов'язаних із визначенням статистичної вірогідності результатів випробування. Зокрема, описані нижче статистичні підходи та метрологічні характеристики використовують при валідації розроблених методик і для оцінки коректності одержаних результатів аналізу.

У розділах 1–8 викладені підходи, що застосовуються при статистичному аналізі результатів, які є функцією однієї випадкової змінної. Застосування цих підходів для функції декількох випадкових змінних описано в розділі 9. У розділі 10 наведені необхідні статистичні таблиці.

При викладі матеріалу використовують терміни, прийняті у загальній статті 5.3.N.2. *Валідація аналітичних методик і випробувань*.

1. ВИБІРКА

Терміном «вибірка» позначають сукупність статистично еквівалентних результатів (варіант). Як таку сукупність можна, наприклад, розглядати ряд результатів, одержаних при рівнобіжних визначеннях вмісту речовини в однорідній за складом пробі.

Окремі значення варіант вибірки обсягу n прийнято позначати через x_i ($1 \leq i \leq n$). Упорядкована у порядку зростання вибірка може бути подана у вигляді

$$x_1; x_2; \dots; x_i; \dots; x_{n-1}; x_n. \quad (1.1)$$

Результати, одержані при статистичній обробці вибірки, будуть вірогідні, лише якщо ця вибірка однорідна. Перевірка однорідності вибірки розглядається в розділі 1.2. Але, якщо метою випробувань є перевірка однорідності серії препарату (наприклад, при проведенні випробування «Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу»), оцінюють усі одержані результати (значення варіант) без попередньої перевірки однорідності вибірки.

1.1. СЕРЕДНЄ ЗНАЧЕННЯ ТА СТАНДАРТНЕ ВІДХИЛЕННЯ

У більшості випадків середнє вибірки \bar{x} є найкращою оцінкою справжнього значення вимірюваної величини μ , якщо його обчислюють як середнє арифметичне усіх варіант:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}. \quad (1.2)$$

При цьому розкид варіант x_i навколо середнього \bar{x} характеризується величиною стандартного відхилення s . У кількісному хімічному аналізі величина s часто розглядається як міра випадкової похибки, властивої даній методиці аналізу. Квадрат цієї величини s^2 називають дисперсією. Величина дисперсії може розглядатися як міра відтворюваності (збіжності) результатів, поданих у даній вибірці. Обчислення величин s^2 і s проводять за рівняннями 1.5 і 1.6. Іноді для цього попередньо визначають значення відхилень d_i і число ступенів свободи (число незалежних варіант) v :

$$d_i = x_i - \bar{x}, \quad (1.3)$$

$$v = n - 1, \quad (1.4)$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^2}{v} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \times \bar{x}^2}{v}, \quad (1.5)$$

$$s = \sqrt{s^2}. \quad (1.6)$$

Стандартне відхилення середнього результату $s_{\bar{x}}$ обчислюють за формулою:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (1.7)$$

Зазвичай при контролі якості лікарських засобів доцільно використовувати відносні (по відношенню до \bar{x}) величини — відносне стандартне відхилення s_r , відносну дисперсію s_r^2 і відносне стандартне відхилення середнього результату $s_{r,\bar{x}}$. Їх обчислюють за формулами:

$$s_r^2 = \frac{s^2}{\bar{x}^2}, \quad (1.5a)$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}}, \quad (1.6a)$$

$$s_{r,\bar{x}} = \frac{s_{\bar{x}}}{\bar{x}}. \quad (1.7a)$$

Ці відносні величини, залежно від розв'язуваної задачі, можуть виражатися також і у відсотках до \bar{x} . У цьому разі вони часто позначаються відповідно як RSD і $RSD_{\bar{x}}$:

$$RSD = s_r \times 100 \%, \quad (1.6b)$$

$$RSD_{\bar{x}} = s_{r,\bar{x}} \times 100 \%. \quad (1.7b)$$

У фармакопейному аналізі абсолютні величини зазвичай використовують для прямих, а відносні — для непрямих методів аналізу.

Приклад обчислень наведений у розділі 8.1.

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми шуканих варіант, середнє вибірки обчислюють як середнє геометричне, використовуючи логарифм варіант:

$$\lg \bar{x}_x = \frac{\sum_{i=1}^n \lg x_i}{n} \quad (1.8)$$

звідки:

$$\bar{x}_x = \sqrt[n]{x_1 \times x_2 \times \dots \times x_n} = \text{antilg}(\lg \bar{x}_x). \quad (1.9)$$

Значення s^2 , s і s_x у цьому разі також розраховують виходячи з логарифмів варіант і позначають відповідно через s_x^2 , s_x і s_{x^2} .

1.2. ПЕРЕВІРКА ОДНОРІДНОСТІ ВИБІРКИ. ВИКЛЮЧЕННЯ ЗНАЧЕНЬ ВАРІАНТ, ЩО ВИПАДАЮТЬ

Як було зазначено вище, значення \bar{x} , s^2 , s і s_x можуть бути визнані вірогідними, якщо жодна з варіант вибірки не обтяжена грубою похибкою, тобто якщо вибірка однорідна. Виявлення грубих похибок — дуже складне завдання, щодо якого в літературі немає єдиної усталеної думки (див. розділ 7.3. статті 5.3. *Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань і кількісних визначень*). Це особливо стосується вибірок, зовсім малих за обсягом (3–5 вимірювань). Нижче наводяться підходи, що найчастіше використовують для перевірки однорідності вибірок, малих ($n \leq 10$) та великих ($n > 10$) за обсягом.

1.2.1. Вибірки, малі за обсягом

Перевірка однорідності вибірок, малих за обсягом ($n \leq 10$), здійснюється без попереднього обчислення статистичних характеристик. Із цією метою після подання вибірки у вигляді (1.1) для крайніх варіант x_1 і x_n (які передбачаються такими, що випадають) розраховують значення контрольного критерію Q виходячи зі значення розмаху варіювання R :

$$R = \begin{cases} |x_1 - x_n| & \text{для } n = 3..7 \\ |x_1 - x_{n-1}| & \text{для } n = 8..10 \end{cases}, \quad (1.10)$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R}, \quad (1.11a)$$

$$Q_n = \frac{|x_n - x_{n-1}|}{R}. \quad (1.11b)$$

Вибірка визнається неоднорідною, якщо хоча б одне з обчислених значень Q_1 чи Q_n перевищує табличне значення $Q(P_1, n)$, знайдене для довірчої імовірності P_1 (див. Табл. 10.1 Додатка). Варіанти x_1 або x_n , для яких відповідне значення $Q > Q(P_1, n)$, відкидаються, і для одержаної вибірки зменшеного обсягу виконують новий цикл обчислень за рівняннями 1.10 і 1.11 із метою перевірки її однорідності.

Якщо у вихідній вибірці виконуються нерівності $|x_1 - x_2| < |x_2 - x_3|$ і $|x_n - x_{n-1}| < |x_{n-1} - x_{n-2}|$, то рівняння (1.11a) і (1.11b) набувають вигляду:

$$Q_1 = \frac{|x_2 - x_3|}{R}, \quad Q_n = \frac{|x_{n-1} - x_{n-2}|}{R}. \quad (1.12)$$

Одержану в кінцевому підсумку однорідну вибірку використовують для обчислення \bar{x} , s^2 , s і s_x .

Приклад обчислень наведений у розділі 8.2.

Застосування підходу, що оснований на співвідношеннях (1.10–1.12), накладає обмеження на достатню чутливість шкали вимірювань (див. розділ 1.2.3).

1.2.2. Вибірки, великі за обсягом

Для вибірок, великих за обсягом ($n > 10$), перевірку однорідності проводять після попереднього обчислення статистичних характеристик \bar{x} , s^2 , s і s_x . При цьому вибірка визнається однорідною, якщо для усіх варіант відхилення d_i (1.3) задовольняє вимоги $3s$ -критерію:

$$|d_i| \leq 3 \times s. \quad (1.13)$$

Якщо вибірка визнана неоднорідною, варіанти, для яких $|d_i| > 3s$, відкидаються як обтяжені грубими похибками з довірчою ймовірністю $P_2 > 99.0\%$. У цьому разі для одержаної вибірки скороченого обсягу повторюють цикл обчислень статистичних характеристик за формулами (1.2–1.7) і знову проводять перевірку однорідності. Обчислення статистичних характеристик вважають закінченим, коли вибірка скороченого об'єму виявляється однорідною.

Приклад застосування $3s$ -критерію (1.12) для виключення варіант, що випадають, наведений у розділі 8.9.2.

1.2.3. Загальні зауваження щодо ідентифікації варіант, що випадають

Для малих вибірок існує практична проблема недостатньої чутливості шкали вимірювань. Якщо завдяки занадто грубій шкалі усі варіанти, за винятком одного значення, співпадають, то, незалежно від того, як така варіанта відрізняється від інших, вона буде помилково детектуватися як така, що випадає. Така ситуація може зустрічатися для невеликої кількості варіант.

Наприклад, в експерименті були одержані такі значення оптичної густини: 0.4335, 0.4334, 0.4335. Згідно з підходом 1.2.1, величина 0.4334 випадає, що є абсурдним.

Для коректного застосування підходу розділу 1.2.1 необхідно, щоб мінімальний крок шкали вимірювань (d) був незначущий порівнюючи з розмахом варіювання R . Тобто, згідно зі співвідношенням (2.6), має виконуватися нерівність:

$$d \leq 0.32 \times R.$$

При малих вибірках великою є невизначеність статистичних характеристик, що призводить до високої

статистичної незначущості грубих похибок. Так, із Табл. 10.1 Додатка видно, що $Q = 0.94$ для $n = 3$ (така кількість паралельних випробувань є звичайною для рутинного аналізу) і $p = 0.95$. Це означає, що якщо у нас, наприклад, значення x_3 значно відрізняється від x_1 і x_2 , то ми можемо його виключити тільки у тому випадку, коли різниця $|x_2 - x_3|$ буде у 20 разів більшою, ніж $|x_1 - x_2|$ (див. рівняння (1.10–1.11)). У випадку $p = 0.99$ така різниця має бути у 100 разів більше. Ці приклади ілюструють обмеженість на практиці застосування для малих вибірок чисто статистичних критеріїв для ідентифікації варіант, що випадають.

По мірі збільшення вибірки зменшується невизначеність статистичних характеристик, але й збільшується вірогідність великих відхилень від середнього результату. Якщо, наприклад, вірогідність для однієї варіанти потрапити у якийсь довірчий інтервал становить $p_1 = 0.99$, то вірогідність того, що всі n варіант потраплять у цей самий інтервал дорівнює $p_n = 0.99^n$. Відповідно, вірогідність того, що хоча б одна з цих n варіант не попаде у цей довірчий інтервал, дорівнює $p_{0,n} = 1 - 0.99^n$. Розрахунки показують, що навіть для вибірки $n = 10$ вірогідність $p_{0,n} = 0.10$ (тобто перевищує прийнятний в статистиці рівень значимості 0.05), для $n = 30$ маємо $p_{0,n} = 0.26$, а для $n = 80$ маємо $p_{0,n} = 0.55$, тобто більше половини.

Тому для ідентифікації варіант, що випадають, за думкою дослідника (наприклад, з точки зору загальної аналітичної практики) залучають, крім суто статистичних, також інші підходи (див. розділ 6.4).

1.3. ОБ'ЄДНАННЯ ВИБІРОК

1.3.1. Об'єднана дисперсія й об'єднане середнє

Якщо є g вибірок із однієї генеральної сукупності з порядковими номерами k ($1 \leq k \leq g$), розрахунок дисперсії s_p^2 проводять за формулою:

$$s_p^2 = \frac{\sum_{k=1}^g \sum_{i=1}^{n_k} s_{ik}^2}{v_p} = \frac{\sum_{k=1}^g [(n_k - 1) \times s_{ik}^2]}{v_p} = \frac{\sum_{k=1}^g v_k \times s_{ik}^2}{v_p}, \quad (1.14)$$

або для відносних величин:

$$s_{p,r}^2 = \frac{\sum_{k=1}^g v_k \times s_{ik,r}^2}{v_p}, \quad (1.14a)$$

$$RSD_p^2 = \frac{\sum_{k=1}^g v_k \times RSD_{ik}^2}{v_p}, \quad (1.14b)$$

При цьому об'єднане число ступенів свободи v_p дорівнює:

$$v_p = \sum_{k=1}^g v_k, \quad (1.15)$$

де n_k — число варіант у k -тій вибірці;

- v_k — число ступенів свободи в k -тій вибірці;
- s_{ik}^2 — дисперсія k -тої вибірки;
- $s_{ik,r}^2$ — відносна дисперсія k -тої вибірки;
- d_{ik} — відхилення i -тої варіанти k -тої вибірки.

Якщо g вибірок із однієї генеральної сукупності з порядковими номерами k ($1 \leq k \leq g$) характеризуються вибірковими середніми значеннями \bar{x}_k , отриманими з n_k варіант, середнє значення \bar{x} по усіх вибірках обчислюють за формулою:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g n_k \times \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g n_k}. \quad (1.16)$$

Необхідною умовою спільної статистичної обробки декількох вибірок є справедливості гіпотези рівності дисперсій, тобто відсутності статистично значущої різниці між окремими значеннями s_{ik}^2 із рівняння (1.14), $s_{ik,r}^2$ із рівняння (1.14a) або RSD_{ik}^2 із рівняння (1.14b). У найпростішому випадку можна обмежитися порівнянням граничних значень s_{ik}^2 із використанням критерію Фішера F , як зазначено в розділі 3. У більш загальному випадку використовують критерії Бартлета та Кокрена.

1.3.2. Критерій Бартлета

Для перевірки гіпотези, що усі s_{ik}^2 належать до однієї генеральної сукупності, використовують вираз, наближено розподілений як χ^2 :

$$\chi^2 = 2.303 \times \left(v_p \times \lg s^2 - \sum_{k=1}^g v_k \times \lg s_k^2 \right). \quad (1.17)$$

При цьому величини s і v_p обчислюють за формулами (1.14) і (1.15). Знайдену в такий спосіб величину χ^2 порівнюють із відсотковою точкою χ^2 -квадрат розподілу $\chi^2(P, v_\chi)$ (Табл. 10.4 Додатка). Якщо є g вибірок, число ступенів свободи для $\chi^2(P, v_\chi)$ береться рівним $v_\chi = g - 1$. Перевірювана гіпотеза приймається за умови $\chi^2 < \chi^2(P, v_\chi)$. А якщо ні, обчислене значення χ^2 корегують за формулою:

$$\chi^2 = \frac{\chi^2}{C}, \quad (1.18)$$

$$C = \frac{\left[\sum_{k=1}^g (1/v_k) \right] - 1/v_p}{3 \times (g - 1)} + 1,$$

і знову порівнюють із відсотковою точкою χ^2 -квадрат розподілу $\chi^2(P, v_\chi)$. Якщо $\chi^{*2} > \chi^2(P, v_\chi)$, між деякими стандартними відхиленнями є значущі розходження. У цьому разі необхідно провести аналіз наявних даних, відкинути одне чи декілька значень дисперсії, що найбільше відрізняються від інших, і знову провести тест Бартлета. Слід мати на увазі, що критерій Бартлета (так само як і критерій Кокрена) дуже чутливий до порушення вимоги нормальності. Але саме

тому він може бути дуже корисним при формуванні надійних аналітичних архівів.

Описаний критерій Бартлета застосовний лише за умови, що число ступенів свободи у всіх поєднуваних дисперсій більше 3 (тобто всі $v_k > 3$). Однак саме протилежний випадок ($v_k \leq 3$) нерідко і становить найбільший інтерес. Тому Бартлетом була запропонована більш складна модифікація даного критерію, застосовна при будь-яких ступенях свободи. Однак використання її на практиці досить важке без застосування комп'ютерних програм.

Критерій Бартлета не може бути застосовний, якщо через занадто грубу шкалу вимірювань хоча б одне з s_k дорівнює нулю (бо $\lg 0$ не має сенсу). Слід відзначити, що справжнє значення стандартного відхилення не може дорівнювати нулю. Якщо покласти, що мінімальний крок шкали вимірювань (d) відповідає довірчому інтервалу для рівня значущості 99 %, то коефіцієнт Гауса дорівнює 2.44. У цьому випадку отримуємо⁽¹⁾:

$$s_k \geq (1/2.44) \times d = 0.41 \times d.$$

Цю величину s_k рекомендується використовувати у формулах (1.17–1.18) замість $s_k = 0$.

1.3.3. Критерій Кокрена

Якщо всі поєднані дисперсії мають однакове число ступенів свободи (тобто $v_1 = v_2 = \dots = v_g = \nu$), для перевірки гіпотези рівності дисперсій можна застосовувати значно простіший критерій Кокрена зі статистикою:

$$G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{i=1}^g s_i^2}, \quad (1.19)$$

$$s_{\max}^2 = \max(s_i^2).$$

Критичні точки критерію Кокрена наведені в Табл. 10.4 Додатка. Розраховане значення G на обраному рівні значущості (95 % або 99 %) не має перевищувати табличне значення. В іншому разі гіпотеза рівності дисперсій не може бути прийнята, і формули (1.14–1.16) об'єднання вибірок не є коректними.

У рівняннях (1.17) і (1.19) замість абсолютних дисперсій s_i^2 можуть використовуватися відносні величини $s_{i,r}^2$ та RSD_k . Приклади застосування критеріїв Бартлета і Кокрена наведені в розділі 8.4.

1.4. ДОВІРЧІ ІНТЕРВАЛИ Й ОЦІНКА ЇХ ВЕЛИЧИН

Якщо випадкова однорідна вибірка кінцевого обсягу n одержана в результаті послідовних вимірювань деякої величини A , що має справжнє значення μ , середнє цієї вибірки \bar{x} слід розглядати лише як на-

ближену оцінку A . Невизначеність цієї оцінки характеризується величиною довірчого інтервалу $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$, в якому з заданою двобічною довірчою ймовірністю P_2 знаходиться справжнє значення μ , тобто виконується умова:

$$\bar{x} - \Delta_{\bar{x}} \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_{\bar{x}}. \quad (1.20)$$

Слід зазначити, що даний довірчий інтервал не характеризує (як іноді вважається) похибку визначення величини μ . Знайдена величина \bar{x} може бути насправді дуже близькою до справжнього значення μ , але справжнє значення невідоме. Одержаний довірчий інтервал характеризує ступінь невизначеності наших знань про справжнє значення μ величини A за результатами послідовних вимірювань вибірки кінцевого обсягу n .

Довірчий інтервал є окремим випадком так званої «розширеної невизначеності», яка широко застосовується в різних керівництвах. Требі відрізнити її від «стандартної невизначеності», яка є аналогом стандартного відхилення. Надалі, якщо не зазначено особисто, під невизначеністю розуміють довірчий інтервал, зазвичай для рівня значущості 95 %.

Розрахунок граничних значень довірчого інтервалу при відомому значенні стандартного відхилення σ або для вибірок великих за обсягом проводять за рівнянням:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \frac{U(P) \times \sigma}{\sqrt{n}}, \quad (1.21)$$

припускаючи, що варіанти, що входять до вибірки, розподілені нормально. При цьому $U(P)$ табличне значення функції нормального розподілу.

При невідомому значенні стандартного відхилення s для вибірок, невеликих за обсягом, граничні значення довірчого інтервалу розраховують із використанням критерію Стьюдента:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \frac{t(P, \nu) \times s}{\sqrt{n}}, \quad (1.22)$$

або з використанням відносних величин:

$$1 \pm \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} = 1 \pm \frac{t(P, \nu) \times s_r}{\sqrt{n}}, \quad (1.22a)$$

де $t(P, \nu)$ — табличне значення критерію Стьюдента (див. Табл. 10.2). Розподіл Стьюдента $t(P, \nu)$ є узагальненням нормального розподілу $U(P)$ і переходить у нього при достатньо великому числі ступенів свободи ν , тобто $t(P, \nu) \rightarrow U(P)$. Враховуючи це, для уніфікації далі скрізь будуть використовуватися більш загальні співвідношення (1.22) і (1.22a), навіть якщо йдеться про обробку досить великих вибірок.

Напівширини відносних довірчих інтервалів одичного ($\Delta_{x,r}$) і середнього ($\Delta_{\bar{x},r}$) результатів часто виражають у відсотках до \bar{x} . У цьому разі у вира-

(1) USP 38, <41> Balances.

зі (1.22а) замість величини s_r використовують RSD , а замість одиниці беруть 100 %, тобто:

$$100 \pm \Delta_{x,r} \% = 100 \pm \frac{t(P, v) \times RSD}{\sqrt{n}} \quad (1.23)$$

Якщо при вимірюванні за тією ж самою методикою різних значень величини A були одержані дві випадкові однорідні вибірки обсягом n і m , то при $m < n$ для вибірки обсягом m справедливий вираз:

$$\bar{x}_{(m)} \pm \Delta_{\bar{x}_{(m)}} = \bar{x}_{(n)} \pm \frac{t(P, v_{(n)}) \times S_{(n)}}{\sqrt{m}} \quad (1.24)$$

(індекс означає належність величин до вибірки обсягом m чи n).

Вираз (1.24) дозволяє оцінити величину довірчого інтервалу середнього $\bar{x}_{(m)}$, знайденого для вибірки обсягом m . Інакше кажучи, довірчий інтервал середнього $\bar{x}_{(m)}$ вибірки відносно малого обсягу m може бути звужений завдяки використанню відомих величин $S_{(n)}$ і $t(P, v_{(n)})$, знайдених раніше для вибірки більшого обсягу n .

Більш загальним підходом для звуження довірчого інтервалу є об'єднання вибірок із розрахунком об'єданого стандартного відхилення та ступенів свободи за рівняннями (1.14–1.15). Це стандартне відхилення і відповідний об'єданому числу ступенів свободи критерій Стюдента підставляють потім у вираз (1.24).

Аналогічно (1.20–1.22) визначається довірчий інтервал окремого визначення. Підставляючи $n = 1$ у вираз (1.22), маємо:

$$x_i \pm \Delta_x = x_i \pm t(P, v) \times s \quad (1.25)$$

або з використанням відносних величин:

$$\frac{x_i \pm \Delta_{x,r}}{\bar{x}} = \frac{x_i \pm t(P, v) \times s_r}{\bar{x}} \quad (1.25a)$$

Цей інтервал є довірчим інтервалом результату окремого визначення. Для нього з довірчою ймовірністю P виконуються взаємозалежні умови:

$$x_i - \Delta_x \leq \mu \leq x_i + \Delta_x \quad (1.26)$$

$$\mu - \Delta_x \leq x_i \leq \mu + \Delta_x \quad (1.27)$$

Значення $\Delta_{\bar{x}}$ і Δ_x із виразів (1.20) і (1.22) використовують при обчисленні відносних невизначеностей окремої варіанти (ϵ) і середнього результату ($\bar{\epsilon}$), виражаючи ці величини у відсотках:

$$\epsilon = \Delta_{x,r} \times 100 = \frac{\Delta_x}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (1.28)$$

$$\bar{\epsilon} = \Delta_{\bar{x},r} \times 100 = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (1.28a)$$

Приклад обчислень наведений у розділі 8.3.

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми вихідних варіант, вирази (1.22) і (1.25) набувають вигляду:

$$\lg \bar{x} \pm \Delta_{\lg \bar{x}} = \lg \bar{x} \pm \frac{t(P, v) \times s_{\lg}}{\sqrt{n}} \quad (1.29)$$

$$\lg x_i \pm \Delta_{\lg x} = \lg x_i \pm t(P, v) \times s_{\lg} \quad (1.30)$$

Потенціювання виразів (1.29) і (1.30) призводить до несиметричних довірчих інтервалів для значень \bar{x} і x_i :

$$\text{antilg}(\lg \bar{x} - \Delta_{\lg \bar{x}}) \leq \bar{x} \leq \text{antilg}(\lg \bar{x} + \Delta_{\lg \bar{x}}), \quad (1.31)$$

$$\text{antilg}(\lg x_i - \Delta_{\lg x}) \leq x_i \leq \text{antilg}(\lg x_i + \Delta_{\lg x}), \quad (1.32)$$

де

$$\Delta_{\lg \bar{x}} = \frac{t(P, v) \times s_{\lg}}{\sqrt{n}}, \quad (1.33)$$

$$\Delta_{\lg x} = t(P, v) \times s_{\lg} \quad (1.34)$$

При цьому для нижніх і верхніх меж довірчих інтервалів \bar{x} і x_i маємо:

$$\bar{\epsilon} = \left[\frac{\text{antilg}(\lg \bar{x} \pm \Delta_{\lg \bar{x}}) - \bar{x}}{\bar{x}} \right] \times 100 \% \quad (1.35a)$$

$$\epsilon = \left[\frac{\text{antilg}(\lg x_i \pm \Delta_{\lg x}) - x_i}{x_i} \right] \times 100 \% \quad (1.35b)$$

1.5. ОДНОБІЧНІ ТА ДВОБІЧНІ ДОВІРЧІ ІНТЕРВАЛИ

Співвідношення (1.20–1.35) характеризують так звані «двобічні» довірчі інтервали. Вони базуються на двобічному t -розподілі та широко застосовуються при оцінюванні невизначеності методик і поданні результатів. Однак при вирішенні питань гарантії якості продукції (див. розділ 6.3), а також при контролі серійної продукції, зокрема при контролі якості готових лікарських засобів, нерідко виникає необхідність використання так званих «одnobічних» довірчих інтервалів.

Наприклад, для готового лікарського засобу межі вмісту активного компонента встановлені 90–110 % від номінального. У процесі аналізу одержане середнє значення вмісту $\bar{x} = 92$ % від номінального значення. Нас цікавить, чи не виходить довірчий інтервал за межі вмісту (90–110 %). Очевидно, що в даному разі цей довірчий інтервал може вийти тільки за нижню межу (90 %), але не за нижню й верхню (110 %) межі одночасно. Питання про можливість виходу справжньої величини μ за верхню межу нас у даному разі не цікавить (у зв'язку з його вкрай низькою ймовірністю). Отже, можна вважати, що з заданою одnobічною довірчою ймовірністю P , справжнє значення μ знаходиться в інтервалі:

$$\bar{x} - \Delta_{\bar{x}} \leq \mu \leq \infty \quad (1.36a)$$

Аналогічний вираз можна записати для випадку, коли \bar{x} перевищує 100 % (наприклад, $\bar{x} = 105$ %):

$$-\infty \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x. \quad (1.36b)$$

Комбінація (1.36a) і (1.36b) дає співвідношення:

$$\bar{x} - \Delta_x \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x. \quad (1.36c)$$

Це співвідношення по формі нічим не відрізняється від довірчого інтервалу (1.20), але статичний зміст його інший: з заданою довірчою ймовірністю P_1 справжнє значення μ не виходить за нижню або верхню межу довірчого інтервалу (1.36c).

Співвідношення (1.36a–1.36c) характеризують однібічні довірчі інтервали, оскільки величина μ ними обмежується лише з одного боку. Це відрізняє їх від співвідношення (1.20), де величина μ обмежується з обох боків. Табличні значення критерію Стюдента для однібічного і двобічного розподілу наведені в Табл. 10.2. Існує таке співвідношення між двобічним (P_2) і однібічним (P_1) критеріями Стюдента:

$$t[P_2, \nu] = t[(2P_1 - 100), \nu]. \quad (1.37)$$

Зокрема, однібічний критерій Стюдента для ймовірності 95 % збігається із двобічним критерієм Стюдента для ймовірності 90 %.

Отже, P_2 — це ймовірність того, що математичне очікування (або справжнє значення) оцінюваної величини знаходиться у двобічно обмежених інтервалах (1.20–1.35), а P_1 — це ймовірність того, що воно знаходиться в однібічно обмежених інтервалах (1.36–1.37). Виходячи зі свого смислу, величини P_2 і P_1 у цьому випадку також часто називають рівнем значущості або надійністю того, що математичне сподівання (або справжнє значення) оцінюваної величини знаходиться у цих двобічно або однібічно обмежених інтервалах.

У літературі (зокрема, у таблицях) нерідко використовують величини (які по-різному позначаються) $(100 - P_2)$ і $(100 - P_1)$, що характеризують ймовірність того, що математичне сподівання (або справжнє значення) оцінюваної величини виходить за зазначені вище межі. У багатьох випадках такі величини є більш зручними.

2. МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ АНАЛІЗУ

2.1. ПРЕДСТАВЛЕННЯ МЕТРОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК

Метрологічні характеристики методики встановлюють шляхом статистичної обробки однієї вибірки або спільної статистичної обробки декількох вибірок із тієї самої генеральної сукупності. Як такі вибірки можуть використовуватися дані аналітичного архіву лабораторії або результати, одержані при аналізі зразків із відомим вмістом визначуваного компонента μ . Якщо ми маємо справу тільки з однією випадковою змінною, то результати статистичної обробки можуть бути подані у вигляді Табл. 2.1. Статистична обробка функції декількох випадкових змінних розглядається у розділі 9.

Зазвичай простіше використовувати відносні величини. Результати статистичної обробки можуть бути представлені в цьому випадку у вигляді Табл. 2.1a.

2.2. ФОРМУЛЮВАННЯ АНАЛІТИЧНОЇ ЗАДАЧІ

Оцінка метрологічних характеристик результатів аналізу і самої методики аналізу передбачає постановку аналітичної задачі — для якої цілі ця методика використовується. З цього погляду, слід розрізнявати визначення концентрації деякої речовини в якомусь об'єкті (наприклад, визначення вмісту кислоти ацетилсаліцилової у таблетках) від контролю якості цього ж об'єкта (таблеток кислоти ацетилсаліцилової) за показником вмісту кислоти ацетилсаліцилової. Прийнятні значення метрологічних характеристик для цих випадків можуть бути суттєво різними.

Якщо аналітична задача — визначення концентрації (наприклад, вмісту кислоти ацетилсаліцилової у таблетках), то це означає, що нас цікавить саме концентрація, яка має бути визначена в заданому аналітичному діапазоні із заданою правильністю і прецизійністю (яка характеризується довірчим інтервалом). Така постановка задачі характерна, наприклад, при вивченні стабільності, профілів розчинення при доведенні біоеквівалентності *in*

Таблиця 2.1

Метрологічні характеристики методики аналізу. Абсолютні величини

μ	ν	\bar{x}	s	P	$t(P, \nu)$	Δ_x	ε	$\delta_{абс}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Таблиця 2.1a

Метрологічні характеристики методики аналізу. Відносні величини

μ	ν	\bar{x}/μ	s	s_r	P	$t(P, \nu)$	$\Delta_{x,r}$	ε	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

vitro, аналізі тенденцій або кількісному визначенні в окремих таблетках при проведенні випробування на однорідність вмісту.

Якщо аналітична задача — контроль якості якоїсь серійної продукції (наприклад, лікарського засобу) за показником «Кількісне визначення», то постановка задачі інша. Контроль якості передбачає, що ми з певним ступенем надійності (з яким — необхідно визначитись) робимо висновок про те, знаходиться концентрація речовини, що аналізується, в припустимих межах (допусках) чи ні. Якщо знаходиться, то препарат якісний, якщо ні — бракований. При цьому саме значення концентрації, у загальному випадку, нас може і не цікавити. Прикладом є кількісне визначення більшості фармакопейних субстанцій із симетричними допусками вмісту. Отримані у такому випадку результати не характеризують кількісний вміст основної речовини (його можна значно точніше обчислити, віднявши від 100 % вміст домішок). Задача інша — показати, що отриманий результат статистично значуще не відрізняється від 100 %.

2.3. ОСОБЛИВОСТІ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ПОКАЗНИКОМ «КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ»

2.3.1. Загальні положення

Контроль якості лікарських засобів має низку особливостей, які відрізняють його від аналізу інших об'єктів.

1. Незважаючи на намагання виробника забезпечити однорідність серій, що виробляються, досягти абсолютної гомогенності теоретично неможливо. Тому готові лікарські засоби є в загальному сенсі неоднорідними за концентраціями діючих речовин. У випадку дозованих лікарських засобів (таблетки, капсули, супозиторії тощо) ця неоднорідність регламентується вимогами статті 2.9.40 *Однорідність дозованих одиниць*. Фактори неоднорідності готових лікарських засобів призводять до того, що за результатами аналізу декількох окремих одиниць продукції важко з прийнятною невизначеністю оцінити генеральне значення вмісту в лікарському засобі речовини, що аналізується. Це означає, зокрема, що отриманий в експерименті довірчий інтервал характеризує тільки збіжність результатів і може не вміщувати генеральне середнє.
2. Беручи до уваги фактори неоднорідності, а також інші чинники, при оцінці результатів і прийнятті рішень про якість лікарських засобів доцільно використовувати не фактичні метрологічні характеристики (які можуть значно відрізнятися в різних лабораторіях), а їхні максимально допустимі значення.
3. Якість лікарських засобів регламентується вимогами монографії Фармакопеї або специфікації виробника.

4. Концентрації речовин, що аналізуються за ними, у випадку двобічного нормування мають знаходитися в межах від $100 - B_{Low}$ до $100 + B_{High}$. Зазвичай допуски вмісту є симетричними, тобто $100 \pm B$. Далі розглядається саме цей випадок.
5. Згідно з підходом Фармакопеї, ці допуски мають вміщувати в собі *всі* фактори варіабельності — як технологічні (зокрема, фактори неоднорідності), так і аналітичні (зокрема, невизначеність аналітичної методики). Для спрощення ми не розглядаємо вплив фактора нестабільності, оскільки переважна більшість фармакопейних субстанцій є стабільними речовинами.
6. Фармакопея у відповідних загальних і окремих статтях встановлює загальні вимоги до мірного посуду, реактивів, аналітичного обладнання, стандартних зразків тощо. Ці вимоги, разом з урахованими вимогами специфікації, визначають максимально допустиму (з погляду Фармакопеї) невизначеність методики контролю якості лікарського засобу ($max\Delta_{Ab}$). Якщо лабораторія проводить контроль якості лікарського засобу відповідно до цих вимог (тобто з невизначеністю аналізу не вище $max\Delta_{Ab}$), то отримані нею результати не можуть бути поставлені під сумнів.
7. Метрологічні характеристики аналітичного обладнання (спектрофотометрів, хроматографів тощо) у різних контрольних лабораторіях можуть значно варіюватися, залишаючись при цьому відповідними вимогам Фармакопеї. Тому результати аналізу, отримані різними лабораторіями (наприклад, на підприємствах і в лабораторіях державного контролю), можуть мати суттєво різну невизначеність, яка, однак, не має перевищувати $max\Delta_{Ab}$. Це може призводити до різних висновків про якість лікарського засобу в цих лабораторіях (наприклад, на підприємствах і в лабораторіях державного контролю). Для запобігання цьому виробникам доцільно встановлювати гарантуючі допуски для показників якості, що визначаються (зокрема, див. нижче).

Як видно, однією з найважливіших метрологічних характеристик при контролі якості лікарських засобів є максимально допустима невизначеність аналізу ($max\Delta_{Ab}$). Для її встановлення можуть бути запропоновані різні підходи.

У фармацевтичному аналізі існують два основних підходи, які відображають еволюцію ролі тесту «Кількісне визначення» в контролі якості субстанцій і готових лікарських засобів (ГЛЗ) і призводять до застосування різних вимог до максимально допустимої невизначеності аналізу. Ці підходи можна умовно назвати «*доказовим*» (ми не знаємо дійсного вмісту, знаходимо його і *доводимо*, що він знаходиться в потрібних межах) і «*підтверджуючим*» (ми знаємо дійсний вміст і *підтверджуємо* його).

2.3.2. Доказовий підхід

Цей підхід застосовний до ГЛЗ і деяких субстанцій.

Вихідні припущення. Невизначеність методики аналізу не є визначальною при встановленні допусків вмісту компонента, що аналізується. Загальна сума інших компонентів (в субстанціях — це домішки, в ГЛЗ — домішки і допоміжні речовини) не контролюється. Методи аналізу: неселективний — для субстанцій і ГЛЗ; селективний (хроматографія) — для ГЛЗ. Результати кількісного визначення можуть при цьому відповідати як реальним концентраціям компонента, що аналізується (при застосуванні селективного методу), так і деяким умовним величинам (концентраціям) (при застосуванні неселективного методу).

Розподіл концентрацій. (Умовні) концентрації для якісного препарату вважаються розподіленими за випадковим (гаусовим) законом біля 100 % (або іншої величини) в межах допусків специфікації. Зокрема, можливі і концентрації, які знаходяться на межах допусків.

Вимоги. Результати кількісного визначення, безвідносно до невизначеності методики аналізу, мають знаходитися в межах, що регламентуються монографією Фармакопеї або специфікацією виробника. Вихід за ці межі означає, що вміст домішок перевищує допустимий рівень (для субстанцій) або вміст компонента, що аналізується, виходить за межі, що регламентуються (для ГЛЗ).

Мета методики аналізу. Визначити, чи знаходяться (умовні) концентрації в межах, що регламентуються. Для того, щоб це довести, необхідно скористатися методикою аналізу, невизначеність якої суттєво менша за ці межі.

Для регламентації максимально допустимої невизначеності методики аналізу $\max\Delta_{As}$ в доказовому підході можуть використовуватися різні підходи, зокрема принцип незначущості (див. розділ 2.4.2.1). При його використанні, згідно зі співвідношенням (2.6), максимальна невизначеність методики аналізу $\max\Delta_{As}$ має відповідати нерівності:

$$\max\Delta_{As} \leq 0.32 \times B,$$

де B — півширина меж концентрації, що регламентується.

Доказовий підхід не викликає заперечень для ГЛЗ, у яких межі вмісту пов'язані переважно чином з неоднорідністю дозування діючої речовини і де результати аналізу мають важливе значення для зведення матеріального балансу і дослідження стабільності.

Не викликав цей підхід особливих заперечень і для субстанцій, поки для їхнього кількісного визначення використовувалися неселективні методи аналізу, а загальна сума домішок не регламентувалася. Однак з появою принципу «прозорості» монографій ситуація для субстанцій докорінно змінилася.

2.3.3. Підтверджуючий підхід

Цей підхід застосовується зазвичай для контролю якості субстанцій за показником «Кількісне визначення» і сьогодні є офіційним методом ЄФ/ДФУ.

Вихідні припущення. Усі домішки відомі і контролюються монографією або специфікацією. Межі вмісту основної речовини в субстанції встановлюються на підставі максимально допустимого вмісту домішок і невизначеності методики аналізу. При цьому враховується різна чутливість методики аналізу щодо домішок і основної речовини.

Розподіл концентрацій. Істинні концентрації основної речовини розподілені за випадковим законом не в межах вимог специфікації, а в межах від (100 – сума домішок) % до 100 %. У межах специфікації розподілені випадковим чином не істинні концентрації, а результати, які отримані за методикою аналізу. Очевидно, що в цьому випадку верхній допуск вмісту основної речовини в субстанції B_{High} визначається тільки максимально допустимою невизначеністю методики аналізу, тобто

$$\max\Delta_{As} \leq 100 - B_{High}.$$

Вимоги. Результати кількісного визначення мають знаходитися в межах, які регламентуються монографією Фармакопеї або специфікацією. Оскільки всі домішки контролюються іншими випробуваннями (принцип «прозорості»), то вихід за ці межі (при вмісті домішок у межах вимог монографії або специфікації) можливий тільки з однієї причини — дана субстанція виробляється за технологією, яка не контролюється монографією Фармакопеї або специфікацією.

Мета методики аналізу. Підтвердити, що вміст основної речовини значуще не відрізняється від інтервалу [(100 – сума домішок) %, 100 %]. Як видно, в цьому випадку кількісне визначення втрачає своє колишнє значення і, фактично, виконує роль ідентифікації.

Слід відзначити, що підтверджуючий підхід є основним підходом у належних практиках. Усі метрологічні питання вирішуються на стадії валідації процесу, а при рутинному контролі підтверджується, що параметри процесу відповідають необхідним критеріям. Це дозволяє значно спростити контроль процесу.

2.4. ОЦІНКА ЗНАЧУЩОСТІ СИСТЕМАТИЧНОЇ ПОХИБКИ

За відомого вмісту визначуваного компонента μ у зразку необхідно оцінити значущість систематичної похибки (δ). Ця похибка може бути значущою (чи незначущою) статистично або практично.

Статистична значущість означає, що систематична похибка перевищує довірчий інтервал (для ймовірності P) результатів визначення величини, що ана-

лізується. Тобто на рівні ймовірності P ми можемо говорити про наявність систематичної похибки. Для відносної величини систематичної похибки δ це означає (див. рівняння (1.23)):

$$\delta > \Delta_{\alpha, P} \% = \frac{t(P, \nu) \times RSD}{\sqrt{n}} \quad (2.1)$$

Зі співвідношення (2.1) видно, що величина напівширини відносного довірчого інтервалу $\Delta_{\alpha, P}$ зменшується з ростом обсягу вибірки. Отже, збільшуючи обсяг вибірки n (що призводить до відповідного зменшення $\Delta_{\alpha, P}$), можна, теоретично, будь-яку малу систематичну похибку δ зробити статистично значущою.

Тому, якщо нерівність (2.1) не виконується (тобто $\delta < \Delta_{\alpha, P}$), то це не означає відсутність систематичної похибки. Це означає тільки, що ця систематична похибка δ є статистично незначущою в даній серії експерименту при даному обсязі вибірки n . В іншій серії експерименту (навіть при тому самому обсязі вибірки n) ми можемо отримати менше значення RSD (згідно з розподілом Фішера — Табл. 10.5, величини RSD в різних експериментах можуть значно різнитися) і, відповідно, менше значення $\Delta_{\alpha, P}$. Тоді нерівність (2.1) може виконуватися ($\delta > \Delta_{\alpha, P}$), тобто систематична похибка δ стає статистично значущою.

У той же час статистично значуща систематична похибка може бути прийнятною для розв'язання поставленої аналітичної задачі, якщо вона критично не впливає на прийняття рішення за результатами аналізу.

Практична значущість означає, що систематична похибка δ є значущою (тобто непринятною) для вирішення поставленої аналітичної задачі. Така систематична похибка має бути зменшена до прийнятного рівня шляхом доопрацювання методики. В протилежному випадку методика не може бути використана для вирішення поставленої аналітичної задачі, бо систематична похибка критично впливає на прийняття рішення за результатами аналізу.

2.4.1. Статистична значущість систематичної похибки

Обчислюють критерій Стьюдента t :

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}| \times \sqrt{n}}{s} \quad (2.2)$$

або у відносних величинах:

$$t = \frac{\left| 1 - \frac{\bar{x}}{\mu} \right| \times \sqrt{n}}{s_r} \quad (2.2a)$$

Якщо, наприклад, при $P = 95\%$ і $\nu = n - 1$ реалізується нерівність

$$t > t(P, \nu), \quad (2.3)$$

то одержані за даною методикою результати обтяжені статистично значущою систематичною похибкою на довірчому рівні P , відносна величина якої δ може бути оцінена за формулою:

$$\delta = \left| 1 - \frac{\bar{x}}{\mu} \right| \times 100\% \quad (2.4)$$

Значущі систематичні похибки (тобто похибки, для яких реалізується нерівність (2.3)) мають бути обов'язково перевірені на практичну значущість (див. нижче) для розв'язання поставленої задачі.

Приклад обчислень наведений у розділі 8.5.

При проведенні спільної статистичної обробки декількох вибірок, дані в стовпчиках 1–4, 7–9 Табл. 2.1 наводять окремо для кожної вибірки. При цьому у стовпчиках 2, 4, 6–9 в останньому рядку під ризикою наводять узагальнені значення ν , s , t , Δ_{α} , ε і δ . Аналогічно для Табл. 2.1a.

Якщо для обчислення метрологічних характеристик методики використовуються дані аналітичного архіву, значення μ невідоме і, відповідно, заповнюються не усі стовпчики Табл. 2.1.

2.4.2. Практична значущість систематичної похибки

Поняття практичної значущості систематичної похибки ґрунтується на принципі незначущості.

2.4.2.1. Принцип незначущості

Довірчий інтервал Δ_2 є значущим на рівні $P\%$ (незначущим на рівні $100 - P\%$) порівнюючи з довірчим інтервалом Δ_1 , якщо сумарний довірчий інтервал Δ_{pooled} перевищує Δ_1 не більше ніж на $p\%$, тобто виконується нерівність:

$$\Delta_{pooled} = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \leq \left(1 + \frac{P}{100}\right) \times \Delta_1 \quad (2.5)$$

У принципі, можна задаватися будь-яким рівнем значущості p . В аналітичній практиці зазвичай використовують рівень значущості $p = 5\%$ (тобто рівень незначущості 95%). У цьому випадку рішенням співвідношення (2.5) буде нерівність:

$$\Delta_2 \leq 0.32 \times \Delta_1 \quad (2.6)$$

Ця нерівність є основним співвідношенням принципу незначущості при формуванні критеріїв прийнятності валидаційних характеристик (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»).

Відзначимо, що для рівня значущості $P = 1\%$ (тобто рівня незначущості 99%) коефіцієнт перед Δ_1 в рівнянні (2.6) буде не 0.32, а 0.14, а для рівня значущості 10% (тобто рівня незначущості 90%) — 0.46.

2.4.2.2. Критерій практичної незначущості систематичної похибки

Систематична похибка δ є практично незначущою для розв'язання поставленої аналітичної задачі, якщо виконується нерівність:

$$\delta \leq 0.32 \times \max \Delta_{\Delta_s}. \quad (2.7)$$

Тут: $\max \Delta_{\Delta_s}$ — максимально допустима невизначеність результатів аналізу, виражена як довірчий інтервал для рівня значущості $p = 5\%$ (див. розділ *D* загальної статті 5.3.N.2. «Валідація аналітичних методик і випробувань»).

Використання критерію (2.7) практичної незначущості систематичної похибки вільне від тих недоліків, які має застосування принципу статистичної незначущості (2.1) — див. вище.

Приклад оцінювання статистичної і практичної значущості систематичної похибки наведений у розділі 8.5.

3. ПОРІВНЯННЯ ДВОХ МЕТОДИК АНАЛІЗУ ЗА ВІДТВОРЮВАНІСТЮ

Таке порівняння проводять шляхом з'ясування значущості розходження вибірових дисперсій аналізу цих двох методик. У більш загальному випадку даний підхід застосовується для оцінки значущості розходження двох вибірових дисперсій — наприклад, з метою з'ясувати, чи можна їх вважати вибіровими оцінками однієї і тієї самої дисперсії генеральної сукупності.

При порівнянні відтворюваності (збіжності) двох методик аналізу з оцінками дисперсій s_1^2 і s_2^2 ($s_1^2 > s_2^2$) обчислюють критерій Фішера F :

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}. \quad (3.1)$$

Критерій F характеризує при $s_1^2 > s_2^2$ вірогідність розходження між s_1^2 і s_2^2 .

Обчислене значення F порівнюють із табличним значенням $F(P, v_1, v_2)$, знайденим при $P = 99\%$ (див. Табл. 10.5 Додатка).

Якщо

$$F > F(P, v_1, v_2), \quad (3.2)$$

розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 визнається статистично значущим з імовірністю P , що дозволяє зро-

бити висновок про більш високу відтворюваність другої методики. При

$$F \leq F(P, v_1, v_2) \quad (3.3)$$

розходження значень s_1^2 і s_2^2 не може бути визнане значущим, і висновок про розходження відтворюваності (збіжності) методик не можна зробити через недостатній обсяг інформації. Якщо

$$F(P_1 = 0.95\%, v_1, v_2) < F < F(P_1 = 0.99\%, v_1, v_2), \quad (3.4)$$

доцільно провести подальші експериментальні дослідження для методики із кращою відтворюваністю.

При порівнянні двох методик аналізу результати статистичної обробки можуть бути подані у вигляді Табл. 3.1. Порівняння бажано проводити при $\mu_1 = \mu_2$, $v_1 > 10$ і $v_2 > 10$. Якщо точні значення μ_1 і μ_2 невідомі, величини δ і $t_{обч}$ не визначають.

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми вихідних варіант, замість величин μ , σ і s в Табл. 3.1 наводять величини $lg\mu$, $lg\sigma$ і s_{lg} . При цьому в стовпчик 8 вносять величину Δ_{lgx} , а у 9 — максимальне за абсолютною величиною значення ε . Аналогічні заміни проводять при обчисленні t за рівнянням (2.3) і F за рівнянням (3.1).

Приклад обчислень наведений у розділі 8.5.

4. МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЕРЕДНЬОГО РЕЗУЛЬТАТУ

Якщо за допомогою даної методики аналізу (вимірювання) треба визначити значення певної характеристики (показника якості лікарського засобу) A , для одержаної експериментально однорідної вибірки обсягом m розраховують величини, необхідні для заповнення Табл. 4.1. Якщо методика має метрологічну атестацію, стовпчики 2, 4, 5, 7, 8 і 9 Табл. 4.1 заповнюються на підставі даних Табл. 2.1. Це дозволяє значно звужити межі довірчого інтервалу за рахунок більшого числа ступенів свободи (див. рівняння (1.24)). Якщо $n \leq 15$, а $\frac{m+n}{n} > 15$, величини s і v доцільно обчислювати за формулами (1.14) і (1.15).

У багатьох випадках простіше використовувати відносні (щодо \bar{x}) величини. У цьому разі доцільно проводити розрахунки за Табл. 4.1а.

Таблиця 3.1

Дані для порівняльної метрологічної оцінки двох методик аналізу

Методика; № п/п	μ	v	σ	s	P	$t(P, v)$	Δ_x	ε	$t_{обч}$	$F(P, v_1, v_2)$ (табл. P = 99 %)	$F_{обч}$	δ	Примітки
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1													
2													

Таблиця 4.1

Метрологічні характеристики середнього результату

m	ν	\bar{x}	s	s_r	P	$t(P, \nu)$	Δ_x	$\Delta_{x,r}$ або $\bar{x} \pm \Delta_{x,r}$	ϵ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Таблиця 4.1a

Метрологічні характеристики середнього результату

m	ν	\bar{x}	s	s_r	P	$t(P, \nu)$	$\Delta_{x,r}$	ϵ
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Таким чином, на підставі виразу (1.20) для вимірюваної величини A за незначущості систематичної похибки з імовірністю P виконується умова:

$$\bar{x} - \Delta_x \leq A \leq \bar{x} + \Delta_x, \quad (4.1)$$

тобто

$$\Delta = \bar{x} \pm \Delta_x, \quad (4.2)$$

або з використанням відносних величин:

$$\frac{\Delta}{\bar{x}} = 1 \pm \Delta_{x,r}, \quad (4.2a)$$

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми вихідних варіант, у стовпчику 9 Табл. 4.1 наводять величину $\Delta_{x,r}$, а кожний зі 3, 9 і 10 розбивають на два (а, б). У 3а наводять значення \bar{x}_a , у 3б — значення $\lg \bar{x}_b$, у 9а і 9б — відповідне значення нижньої та верхньої меж довірчого інтервалу для \bar{x}_x (див. рівняння 1.31 і 1.32). Нарешті, у стовпчику 10 наводять максимальне за абсолютною величиною значення ϵ (див. рівняння (1.35a)).

5. ПОРІВНЯННЯ СЕРЕДНІХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДВОХ ВИБІРОК

Якщо в результаті вимірювань однієї і тієї самої характеристики (показника якості лікарського засобу) A одержані дві вибірки обсягом n_1 і n_2 , причому $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$, може виникнути необхідність перевірки статистичної вірогідності гіпотези:

$$\bar{x}_1 = \bar{x}_2, \quad (5.1)$$

тобто значущості різниці $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$.

Така перевірка необхідна, якщо величина A визначалася за двома різними методиками з метою їхнього порівняння, або якщо величина A визначалася за тією самою методикою для двох різних об'єктів, ідентичність яких слід довести. Для перевірки гіпотези (5.1) треба на першому етапі встановити, чи існує статистично значуще розходження між дисперсіями s_1^2 і s_2^2 . Ця перевірка проводиться, як зазначено в розділі 3.

Розглянемо різні випадки.

5.1. Розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 статистично незначуще (справедлива нерівність (3.3)). У цьому разі значення s_1^2 обчислюють за рівнянням (1.14), а дисперсію s_2^2 різниці $|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|$ — за рівнянням (5.2):

$$s_2^2 = \frac{s^2 \times (n_1 + n_2)}{n_1 \times n_2}, \quad (5.2)$$

$$s_2 = \sqrt{s_2^2}. \quad (5.3)$$

Далі обчислюють критерій Стюдента:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_2} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \times \sqrt{\frac{n_1 \times n_2}{n_1 + n_2}}. \quad (5.4)$$

$$\nu = n_1 + n_2 - 2. \quad (5.5)$$

Якщо при обраному значенні P_2 (наприклад, при $P_2 = 95\%$)

$$t > t(P_2, \nu), \quad (5.6)$$

результат перевірки позитивний — різниця $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ є значущою, і гіпотезу $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ відкидають. Якщо ні, слід визнати, що ця гіпотеза не суперечить експериментальним даним.

5.2. Розходження значень s_1^2 і s_2^2 статистично значуще (справедлива нерівність (3.2)). Якщо $s_1^2 > s_2^2$, дисперсію s_2^2 різниці $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ знаходять за рівнянням (5.7), а число ступенів свободи ν' — за рівнянням (5.8):

$$s_2^2 = \frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}, \quad (5.7)$$

$$\nu' = (n_1 + n_2 - 2) \times \left(0.5 + \frac{s_1^2 \times s_2^2}{s_1^4 + s_2^4} \right). \quad (5.8)$$

Отже, у цьому разі:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_2} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \times \sqrt{\frac{n_1 \times n_2}{n_2 \times s_1^2 + n_1 \times s_2^2}}. \quad (5.9)$$

Обчислене за рівнянням (5.9) значення t порівнюють із табличним значенням $t(P_2, \nu')$, як це описано вище для випадку 1.

Розгляд проблеми спрощується, коли $n_1 \approx n_2$ і $s_1^2 \gg s_2^2$. Тоді за відсутності систематичної похибки середнє \bar{x}_2 вибірки об'єму n_2 беруть за досить точну оцінку

величини A , тобто $\mathbf{x}_2 = \mu$. Справедливість гіпотези $\mathbf{x}_1 = \mu$, еквівалентної гіпотезі (5.1), перевіряють за допомогою виразів (2.2) і (2.3), беручи $v_1 = n_1 - 1$. Гіпотеза (5.1) відхиляється як статистично вірогідна, якщо виконується нерівність (2.3).

5.3. Відоме точне значення величини A . Якщо $A = \mu$, перевіряють дві гіпотези: $\mathbf{x}_1 = \mu$ і $\mathbf{x}_2 = \mu$. Перевірку виконують так, як описано в розділі 2 за допомогою виразів (2.2) і (2.3), окремо для кожної з гіпотез. Якщо обидві гіпотези, що перевіряються, статистично вірогідні, слід визнати вірогідною і гіпотезу (5.1). А якщо ні, гіпотеза (5.1) має бути відкинута.

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми вихідних варіант, при порівнянні середніх використовують величини $\lg \mathbf{x}_1$, $\lg \mathbf{x}_2$ і s_{\lg} .

Якщо різниця ($\mathbf{x}_1 - \mathbf{x}_2$) виявляється значущою, визначають довірчий інтервал для різниці відповідних генеральних середніх ($\mathbf{x}_1 - \mathbf{x}_2$)

$$\begin{aligned} |\mathbf{x}_1 - \mathbf{x}_2| - t(P_2, v) \times s_{\mathbf{x}} &\leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \\ &\leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + t(P_2, v) \times s_{\mathbf{x}} \end{aligned} \quad (5.10)$$

5.4. Використання довірчих інтервалів. Даний випадок досить часто зустрічається на практиці (див. п. 8.6.2).

Нехай за результатами експерименту отримані дві випадкові величини x_1 і x_2 (одиничні або середні), які характеризуються довірчими інтервалами Δ_1 і Δ_2 (с якоюсь довірчою вірогідністю p , зазвичай $p = 0.95$). Чи є різниця між величинами x_1 і x_2 статистично значущою на тому ж рівні значущості p ?

Відповідно до співвідношення (9.5), знаходимо об'єднаний довірчий інтервал Δ_p :

$$\Delta_p = \sqrt{\Delta_1^2 + \Delta_2^2} \quad (5.11)$$

Різниця між величинами x_1 і x_2 є статистично незначущою на рівні вірогідності p , якщо виконується співвідношення:

$$x_2 - x_1 \leq \Delta_p \quad (5.12)$$

Усі методики контролю якості лікарських засобів мають бути валідовані (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»). При проведенні валідації методик кількісного визначення лікарських засобів не ставлять за мету встановити невизначеність методики (вона може значно відрізнитися в різних лабораторіях, наприклад, з різним рівнем обладнання), а доводять, що ця невизначеність не перевищує максимально допустимої величини $\max \Delta_{As}$, яка визначається фармакопейним допуском вмісту (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»). Тому при з'ясуванні статистичної значущості відмінності результатів, отриманих в різних серіях експериментів (наприклад, в різних лабораторіях), у співвідношенні (5.11) покладають $\Delta_1 = \Delta_2 = \max \Delta_{As}$. Вираз (5.12) набуває при цьому вигляду:

$$|x_2 - x_1| \leq \sqrt{2} \times \max \Delta_{As} \quad (5.13)$$

Приклади розрахунків наведені в розділі 8.6.

6. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

Інтерпретація результатів аналізу відрізняється для метрологічно атестованої методики і методики, яка валідована згідно з рекомендаціями загальної статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань».

Інтерпретація для метрологічно атестованої методики ґрунтується на тому, що для неї відома прийнята оцінка стандартного відхилення (RSD_{As}). Такий випадок зустрічається, наприклад, при рутинному аналізі в конкретній лабораторії підприємства. Використання даної оцінки стандартного відхилення зазвичай модливо застосовувати тільки в межах цієї лабораторії, оскільки стандартні відхилення RSD_{As} в різних лабораторіях можуть значно варіюватися. Відзначимо, що і в одній лабораторії фактичне значення стандартного відхилення може значно варіюватися, наприклад, для різного обладнання, для різних аналітиків, змінюватися з часом тощо. Тому лабораторія має докладати певних зусиль для підтвердження, що фактичне значення стандартного відхилення не перевищує зробленої оцінки.

Інтерпретація результатів для валідованої методики ґрунтується на тому, що для неї відома максимально допустима повна невизначеність аналізу $\max \Delta_{As}$. Для демонстрації коректності результатів аналізу всі лабораторії мають контролювати, щоб фактичне значення Δ_{As} не перевищувало $\max \Delta_{As}$. Оскільки величина $\max \Delta_{As}$ є однаковою для всіх контрольних лабораторій, то отримані висновки є коректними також і для них. Тому цей підхід є значно більше застосовується у фармацевтичному аналізі.

6.1. ОЦІНКА ЗБІЖНОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ ПАРАЛЕЛЬНИХ ВИПРОБУВАНЬ

При рутинних аналізах зазвичай проводиться два-три, рідше чотири-шість паралельних визначення. Варіанти одержаної при цьому вибірки обсягом n , упорядкованої згідно з (1.1), можуть значно відрізнитися один від одного. Якщо для даної методики відома (наприклад, за даними попередніх досліджень) прийнята оцінка стандартного відхилення s , то максимальна різниця результатів двох рівнобіжних визначень має задовольняти нерівність:

$$|x_1 - x_n| < L(P, n) \times s, \quad (6.1)$$

де $L(P, n)$ — фактор, обчислений за Пірсоном при $P = 95\%$.

Таблиця 6.1

Значення фактора $L(95\%, n)$ для різного обсягу вибірки

n	2	3	4
-----	---	---	---

L	2.77	3.31	3.65
---	------	------	------

Якщо нерівність (6.1) не виконується, слід провести додаткове визначення і знову перевірити, чи задовольняє величина $|x_1 - x_n|$ нерівність (6.1).

Якщо за результатами чотирьох рівнобіжних визначень нерівність (6.1) не виконується, вважають, що конкретні умови аналізу призвели до зниження відтворюваності методики і прийнята оцінка величини s стосовно даного випадку є заниженою. У цьому разі визначення проводять, як зазначено в розділі 1.2.

6.2. ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ

Проблема забезпечення якості отриманих результатів виникає завжди — як при рутинному аналізі, так і в лабораторних дослідженнях. Підходи, які при цьому використовуються, зазвичай спираються на максимально допустимі значення невизначеності результатів.

6.2.1. Кваліфікація мірного посуду

Мірний посуд, який використовується в контрольних лабораторіях, має відповідати вимогам нормативних документів. Ці документи встановлюють максимально допустиме відхилення (зазвичай це вимоги ISO — $max\Delta_{ISO}$) фактичного об'єму від номінального (задекларованого). При надходженні мірного посуду в контрольну лабораторію (а також періодично в процесі роботи) він підлягає перевірці на відповідність максимально допустимому відхиленню.

Методика проведення верифікації не має значущого впливу на визначення фактичного об'єму, тобто її невизначеність Δ_{verif} має бути незначущою (див. (2.6)) порівнюючи з $max\Delta_{ISO}$:

$$\Delta_{verif} \leq max\Delta_{verif} = 0.32 \times max\Delta_{ISO}. \quad (6.2)$$

Значення Δ_{verif} при цьому розраховується зі стандартного відхилення верифікації S_{verif} за рівнянням (ν — число ступенів свободи):

$$\Delta_{verif} = \frac{s_{verif} \times t(95\%, \nu)}{\sqrt{n}}. \quad (6.3)$$

Приклад проведення перевірки мірного посуду наведений у розділі 8.7.1.

6.2.2. Придатність хроматографічної системи

При проведенні контролю якості лікарських засобів, особливо хроматографічними методами, необхідно провести підтвердження придатності системи. При цьому, зокрема, виникає необхідність визначення максимально допустимого відносного стандартного відхилення RSD_{max} і необхідного числа паралельних

випробувань n для даних допусків вмісту $(100 \pm B)\%$ речовини, що аналізується.

У випадку хроматографічних методів невизначеність прободіготовки є зазвичай незначущою порівнюючи з максимально допустимою загальною невизначеністю аналізу $max\Delta_{As}$. Якщо валідація довела, що інші значущі джерела невизначеності (відхилення від лінійності, стабільність тощо) відсутні, то максимально допустима невизначеність кінцевої операції ($max\Delta_{FAO}$) співпадає з $max\Delta_{As}$. Якщо кількісне визначення проводиться методом стандарту, то $max\Delta_{FAO}$ (у випадку хроматографії це невизначеність паралельних вимірювань площ чи висот піків або їхніх відношень стандартного розчину і розчину, що аналізується) знаходиться за рівнянням (див. (9.8)):

$$max\Delta_{FAO} = max\Delta_{RSD} = \sqrt{2} \times \frac{RSD_{max} \times t(95\%, n-1)}{\sqrt{n}}. \quad (6.4)$$

Звідси отримуємо вимоги до максимально допустимого значення відносного стандартного відхилення (RSD_{max}) як функції $max\Delta_{As}$ і числа паралельних хроматограм n :

$$RSD_{max} = \frac{max\Delta_{As} \times \sqrt{n}}{\sqrt{2} \times t(95\%, n-1)}. \quad (6.5)$$

Розраховані за цим рівнянням значення RSD_{max} для різних n і $max\Delta_{As}$ наведені в загальній статті 2.2.46 «Методи хроматографічного розділення».

6.3. ГАРАНТІЯ ЯКОСТІ ПРОДУКЦІЇ

6.3.1. Метрологічно атестована методика

Припустимо, що якість продукції регламентується граничними значеннями a_{min} і a_{max} величини A , що визначають за результатами аналізу. Для отримання загальних співвідношень зручніше перейти до нормалізованих координат (див. п. 2.2 статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»), тобто до відносних величин — у відсотках до номінальної величини $A_{ном}$. Тоді $X = 100 \times (A/A_{ном})$, $100 - B_{Low} = 100 \times (a_{min}/A_{ном})$, $100 + B_{High} = 100 \times (a_{max}/A_{ном})$.

Покладемо, що ймовірність відповідності якості продукції умові:

$$100 - B_{Low} \leq X \leq 100 + B_{High} \quad (6.6)$$

має становити $P_1\%$.

Нехай величину X знаходять експериментально як середнє вибірки обсягом n , а методика її визначення метрологічно атестована (тобто відоме RSD_{As}). Тоді умова (6.6) буде виконуватися з імовірністю P_1 , якщо значення $X = X$ буде знаходитися в межах:

$$100 - B_{Low} + \Delta_X \leq X < 100 + B_{High} - \Delta_X, \quad (6.7)$$

де

$$\Delta_X = \frac{U(P_1) \times RSD_{\Delta}}{\sqrt{n}} \quad (6.8)$$

Значення коефіцієнта U для ймовірності $P_1 = 95\%$ і $P_1 = 99\%$ відповідно дорівнюють 1.65 і 2.33.

Для гарантії якості спостережувані межі змін величини X на практиці слід обмежити значеннями:

$$\begin{aligned} X_{min} &= 100 - B_{Low} + \Delta_X = \\ &= 100 - B_{Low} + \frac{U(P_1) \times RSD_{\Delta}}{\sqrt{n}}, \end{aligned} \quad (6.9)$$

$$\begin{aligned} X_{max} &= 100 + B_{High} - \Delta_X = \\ &= 100 + B_{High} - \frac{U(P_1) \times RSD_{\Delta}}{\sqrt{n}}. \end{aligned} \quad (6.10)$$

Навпаки, якщо задані значення X_{min} і X_{max} , то значення B_{Low} і B_{High} , що входять до нерівності (6.5), можуть бути знайдені шляхом розв'язування рівнянь (6.9) і (6.10). Нарешті, якщо задані пари значень X_{min} , B_{Low} і X_{max} , B_{High} , рівняння (6.9) і (6.10) можуть бути розв'язані відносно n . Це може бути використане для оцінки необхідного числа паралельних випробувань величини X .

Якщо при вимірюваннях одержують логарифми вихідних варіант, описані в розділі 6 обчислення проводять із використанням величин $\lg \bar{X}$, $\lg x_i$, s_{\lg} та ін.

Приклади розрахунків наведені в розділі 8.8.1.

Слід відзначити, що такий підхід досить рідко застосовний при контролі якості лікарських засобів, бо провести метрологічну атестацію методики, як правило, можливо тільки в межах однієї лабораторії або підприємства (див. вище). Відповідно, гарантуючі допуски (6.5–6.8) мають сенс тільки в межах даної лабораторії або підприємства, що не дозволяє гарантувати отримання позитивних результатів аналізу в інших лабораторіях (наприклад, в державних контрольних лабораторіях). Більш коректним є підхід, оснований на використанні максимально допустимої повної невизначеності аналітичної методики $\max \Delta_{As}$, яка зазвичай встановлюється з інших міркувань, ніж фактичні метрологічні характеристики методики, та підтверджується для методики при її валідації (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»).

6.3.2. Валідована методика

При валідації методики підтверджується, зокрема, максимально допустима повна невизначеність аналізу $\max \Delta_{As}$. У процесі валідації робиться прогноз, що при виконанні фармакопейних та інших вимог у інших лабораторіях з високою надійністю також будуть виконуватися вимоги до $\max \Delta_{As}$. Ця величина є однаковою для всіх лабораторій. Тому для гарантування отримання позитивних результатів аналізу в інших лабораторіях рівняння (6.7) набуває такого вигляду:

$$100 - B_{Low} + \max \Delta_{As} \leq X \leq 100 + B_{High} - \max \Delta_{As}. \quad (6.11)$$

Значення $\max \Delta_{As}$ для різних допусків вмісту в субстанції і готових лікарських засобах, а також способи її розрахунку наведені в статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» (Таблиця 3).

Приклади розрахунків наведені в розділі 8.8.2.

6.3.3. Урахування факторів неоднорідності для дозованих одиниць

Гарантуючі допуски, наведені у п. 6.3.1–6.3.2, застосовні тільки для однорідних лікарських засобів (зокрема, розчинів, ін'єкцій тощо), бо враховують тільки невизначеність аналітичної методики. У випадку дозованих одиниць (таблеток, капсул, супозиторіїв тощо) визначальним чинником є не невизначеність аналітичної методики, а технологічні фактори — неоднорідність дозованих одиниць (див. п. 2.3.1), яка регламентується вимогами статті 2.9.40 «Однорідність дозованих одиниць».

Згідно з вимогами цієї статті, відносний довірчий інтервал неоднорідності вмісту діючої речовини в окремих дозованих одиницях (Δ_{unif}) не має перевищувати $L1 = 15\%$. Кількісне визначення для таблеток зазвичай проводиться з порошку 20 розтертих таблеток з перерахунком на середню масу однієї таблетки. Якщо для аналізу береться наважка порошку, близька до маси однієї таблетки, то статистично незначуща різниця в результатах аналізу між двома паралельними наважками, тільки за рахунок неоднорідності, не має перевищувати $\sqrt{2} \times 15/\sqrt{20} = 4.7\%$ (див. рівняння (1.23) і (5.13)). Сюди ще треба додати невизначеність аналітичної методики.

Беручи до уваги наведене, за результатами аналізу декількох наважок важко з достатньою точністю визначити генеральне середнє вмісту речовини, що аналізується, що ускладнює встановлення гарантуючих допусків.

Встановлення гарантуючих допусків, яке розглядається нижче, є поєднанням підходів, які описані у п. 6.3.1 і 6.3.2, і застосовне тільки для валідованої технології виробництва дозованого лікарського засобу.

Якщо технологія валідована, то відоме генеральне значення вмісту діючої речовини у відсотках до номінального вмісту (X_0) і генеральне стандартне відхилення неоднорідності вмісту (RSD_{unif}). Ці величини, на відміну від RSD_{As} (п. 6.3.1), є технологічними і тому однаковими для всіх лабораторій, що дає можливість використовувати їх для отримання гарантуючих допусків.

Беручи це до уваги, отримуємо гарантуючі допуски вмісту діючої речовини при кількісному визначенні з наважки (близької до маси однієї таблетки) порошку n таблеток з перерахунком на середню масу однієї таблетки:

$$\begin{aligned}
 X_0 - \frac{\Delta_{unif}}{\sqrt{n}} - \max \Delta_{As} &\leq X \leq \\
 &\leq X_0 + \frac{\Delta_{unif}}{\sqrt{n}} + \max \Delta_{As}.
 \end{aligned}
 \quad (6.12)$$

Зазвичай для кількісного визначення використовується порошок $n = 20$ таблеток. Тоді для ймовірності $P_1 = 95\%$ маємо:

$$\frac{\Delta_{unif}}{\sqrt{20}} = \frac{1.65 \times RSD_{unif}}{\sqrt{20}} = 0.37 \times RSD_{unif}. \quad (6.13)$$

Відповідно, гарантуючі допуски (6.12) набувають вигляду:

$$\begin{aligned}
 X_0 - 0.37 \times RSD_{unif} - \max \Delta_{As} &\leq X \leq \\
 &\leq X_0 + 0.37 \times RSD_{unif} + \max \Delta_{As}.
 \end{aligned}
 \quad (6.14)$$

Приклади розрахунків наведені в розділі 8.8.3.

Загальне співвідношення (6.12) дозволяє отримати граничні значення допусків вмісту діючої речовини для дозованих готових лікарських засобів.

Згідно з вимогами статті 2.9.40 «Однорідність дозованих одиниць», максимальне допустиме значення відносного довірчого інтервалу неоднорідності вмісту діючої речовини в окремих дозованих одиницях ($\max \Delta_{unif}$) дорівнює $L1$. Покладаючи також для генерального середнього $X_0 = 100\%$, із співвідношення (6.12) отримуємо:

$$\begin{aligned}
 100 - \frac{L1}{\sqrt{n}} - \max \Delta_{As} &\leq X \leq \\
 &\leq 100 + \frac{L1}{\sqrt{n}} + \max \Delta_{As}.
 \end{aligned}
 \quad (6.15)$$

6.4. ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ТЕСТУВАННЯ

Така необхідність виникає, наприклад, при оцінці результатів: внутрішнього лабораторного тестування співробітників, міжлабораторного експерименту в межах однієї компанії, а також при проведенні зовнішнього тестування лабораторій. Характерні особливості такого оцінювання:

1. Невизначеність результатів невідома і може дуже (у декілька разів) відрізнятись. Тобто, у загальному випадку, ці результати не можна априорно вважати статистично еквівалентними.
2. Кількість результатів (тобто обсяг вибірки) є принципово обмеженою і не може бути збільшена для покращення метрологічних характеристик.
3. Результати аналізу можуть мати загальний зсув (додатний або від'ємний) щодо генерального середнього (яке може бути невідомим).

При цьому зазвичай зустрічаються дві основні аналітичні задачі.

6.4.1. Розрахунок метрологічних характеристик міжлабораторної вибірки

Варіанти, що випадають, спотворюють ці характеристики і мають бути вилучені перед розрахунком цих характеристик. Процедура їх вилучення у цьому випадку має суто статистичний характер і нічим не відрізняється від описаної у розділах 1.2.1–1.2.2. Приклад вилучення варіант, що випадають, при оцінці результатів зовнішнього тестування наведено в розділі 8.9.2.

6.4.2. Оцінка якості результатів учасників тестування

За аналогією з (1.3) для оцінки результатів зазвичай використовують відхилення ($bias_i$) результатів учасників (X_i) від приписного значення X_{Assign} :

$$bias_i = |X_i - X_{Assign}|. \quad (6.16)$$

Цим приписним значенням X_{Assign} може бути атестоване організаторами значення випробовуваної характеристики, середнє значення результатів, отриманих учасниками тощо. Відхилення результатів учасників $bias_i$ не має перевищувати величини $\max bias$, встановленої організаторами, тобто:

$$bias_i \leq \max bias. \quad (6.17)$$

При цьому загальна невизначеність Δ_{Assign} приписного значення має бути незначущою порівнюючи з $\max bias$, тобто згідно з (2.6):

$$\Delta_{Assign} \leq 0.32 \times \max bias. \quad (6.18)$$

Зазвичай учасники тестування, результати яких не відповідають співвідношенню (6.17), вважаються такими, що не пройшли тестування.

Характерною особливістю підходів, що ґрунтуються на співвідношенні (6.17), є те, що величина $\max bias$ може встановлюватися не тільки зі статистичних, але й з інших міркувань.

6.4.3. Внутрішньолабораторне тестування

Для цього випадку характерні невеликі вибірки, які зустрічаються при атестації співробітників, а також у деяких випадках зовнішнього тестування. Невеликий обсяг вибірки не дає можливості залучити метрологічні характеристики самої вибірки. Тому використовують інші міркування.

Зокрема, як $\max bias$ доцільно вибрати максимальну допустиму (з погляду організаторів) невизначеність $\max \Delta$ методики аналізу, що використовується для тестування. Як $\max \Delta$ також може використовуватися значення, яке є типовим для загальної аналітичної практики, або значення, яке є типовим для даної лабораторії. Якщо для тестування використовується методика специфікації, то $\max \Delta$ не має перевищувати (хоча може бути і значно нижче) $\max \Delta_{As}$, яка підтверджується на стадії валідації методики, тобто

результати учасників мають відповідати нерівностям

$$bias_i \leq \max bias = \max \Delta \leq \max \Delta_{As}. \quad (6.19)$$

У деяких випадках метою тестування є оцінка збіжності результатів кожного учасника тестування. Для цього доцільно використовувати результати верифікації мірного посуду, зокрема піпеток. Фактичний довірчий інтервал верифікації учасника тестування не має перевищувати максимальне допустиме значення, тобто відповідати вимогам співвідношення (6.2).

Приклад застосування критерію (6.2) при внутрішньолабораторному тестуванні наведений у розділі 8.9.1.

6.4.4. Зовнішнє тестування

Для зовнішнього (міжлабораторного) тестування характерні великі вибірки, що дає можливість оцінки результатів учасників залучити також метрологічні характеристики самої вибірки. При цьому зазвичай застосовуються два основних підходи: використання метрологічних характеристик вибірки результатів учасників і використання максимально допустимої невизначеності методики аналізу.

6.4.4.1. Використання метрологічних характеристик вибірки результатів учасників

Знаходять середнє значення $X_{Assign} = \bar{x}$ і відносне стандартне відхилення RSD .

Результати учасників, які відповідають нерівності

$$bias_i \leq 2 \times RSD, \quad (6.20)$$

вважаються коректними.

Результати учасників, які відповідають нерівності

$$bias_i > 3 \times RSD, \quad (6.21)$$

вважаються некоректними.

Результати учасників, які відповідають нерівності

$$2 \times RSD < bias_i \leq 3 \times RSD, \quad (6.22)$$

вважаються сумнівними.

Переваги:

— підхід не вимагає атестації тестових зразків.

Недоліки:

- залежність оцінки кожного учасника від результатів інших учасників (чим гірше результати інших учасників, тим краще результат конкретного учасника);
- відсутність зв'язку зі специфікаціями і рутинною процедурою прийняття рішень про якість лікарських засобів у контрольних лабораторіях;
- відсутність зв'язку зі здатністю конкретної лабораторії зробити висновок про якість лікарського засобу, що аналізується;

— вразливість до можливої систематичної похибки (зсуву) результатів усіх учасників.

Одним зі шляхів пом'якшення системних недоліків цього підходу є використання замість фактичних RSD вибірки величин, отриманих з інших міркувань, наприклад з вимог загальної аналітичної практики або архівних даних.

6.4.4.2. Використання максимально допустимої невизначеності методики аналізу

Цей підхід широко використовується при зовнішньому тестуванні лабораторій контролю якості лікарських засобів в Україні і поєднує в собі підходи розділів 6.4.2. для внутрішньолабораторного тестування і 6.4.4.1 (залучення метрологічних характеристик вибірки результатів учасників).

Переваги:

- тісний зв'язок зі специфікаціями і рутинною процедурою прийняття рішень про якість лікарських засобів у контрольних лабораторіях;
- можливість оцінити здатність конкретної лабораторії зробити висновок про якість лікарського засобу, що аналізується, і незалежність від фактичного рівня інших лабораторій;
- можливість одночасної оцінки результатів учасників на різних рівнях вимог (наприклад, здатність лабораторії коректно аналізувати лікарські засоби з межами вмісту $\pm 5\%$, або $\pm 7.5\%$, або $\pm 10\%$ тощо);
- стійкість до можливих систематичних похибок усіх учасників;
- можливість оцінити якість результатів учасників у цілому.

Недоліки:

— необхідність надійної атестації тестового зразка, що викликає певні труднощі для дозованих форм.

Організатори проводять атестацію тестового зразку (як такий зазвичай використовують промислову серію реального лікарського засобу) і знаходять атестоване значення X_{Attest} . Для оцінки результатів учасників застосовують співвідношення (6.16, 6.19), зазвичай покладаючи $X_{Assign} = X_{Attest}$.

Результати учасників, які відповідають вимогам (6.19), вважаються коректними, усі інші — некоректними.

При цьому невизначеність атестованого значення має відповідати співвідношенню (6.18), тобто:

$$\Delta_{Attest} \leq \max \Delta_{Attest} = 0.32 \times \max \Delta_{As}. \quad (6.23)$$

Велика кількість учасників дозволяє залучити метрологічні характеристики самої вибірки і оцінити якість результатів усіх учасників у цілому і розробити відповідні коригувальні дії.

При розрахунку метрологічних характеристик методики аналізу необхідно провести попереднє виключення результатів, що випадають, бо вони

спотворюють ці характеристики. Для цього використовують співвідношення (1.13). Після цього знову розраховують скориговане середнє значення результатів учасників $X(\text{cor})$.

6.4.4.2.1. Наявність загальної систематичної похибки результатів учасників

Розраховують різницю між скоригованим середнім результатом учасників $X(\text{cor})$ і приписним значенням X_{Assign} . Ця різниця не має перевищувати максимальну допустиму невизначеність атестованого значення, тобто:

$$|X(\text{cor}) - X_{\text{Assign}}| \leq \max \Delta_{\text{Assign}} \quad (6.24)$$

Якщо нерівність (6.24) не виконується, то результати учасників обтяжені значущою систематичною похибкою щодо атестованого значення. Це може бути пов'язане з некоректним виконанням методики учасниками, що потребує розробки відповідних коригувальних пропозицій для них.

Іншою причиною невиконання критерію (6.24) може бути некоректність атестованого значення X_{Attest} . Цей фактор необхідно обов'язково виключити перед прийняттям висновку про наявність загальної систематичної похибки результатів учасників.

6.4.4.2.2. Загальна характеристика якості результатів учасників

При проведенні зовнішнього тестування лабораторій контролю якості лікарських засобів важливою є інтегрована оцінка якості результатів усіх учасників. Для цього використовують біномний розподіл.

За загальноприйнятою аналітичною практикою генеральне значення частки лабораторій (p), яка не витримують вимоги тестування, не має перевищувати 0.05 (або 5%). Використовуючи таблиці біномного розподілу для коефіцієнта довіри $P = 0.95$, знаходять критичну найбільшу кількість некоректних результатів ($\max \mu$) для величини $p = 0.05$ при загальній кількості учасників n . Фактична кількість некоректних результатів (μ) не має перевищувати це критичне значення, тобто:

$$\mu \leq \max \mu \quad (6.25)$$

Якщо критерій (6.25) не виконується, то загальний рівень учасників потребує суттєвого підвищення.

Критичні значення некоректних результатів ($\max \mu$) для різної кількості учасників тестування (n) наведені в Табл. 6.2.

Приклад застосування підходу розділу 6.4.4.2 для оцінки результатів зовнішнього тестування наведений у розділі 8.9.2.

Критичні значення некоректних результатів ($\max \mu$) залежно від кількості учасників (n) для коефіцієнта довіри $P = 95\%$

n	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
$\max \mu$	3.3	3.8	4.3	4.7	5.1	5.6	6.0	6.4	6.7	7.1	7.5

7. РОЗРАХУНОК І СТАТИСТИЧНА ОЦІНКА ПАРАМЕТРІВ ЛІНІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ

При використанні багатьох хімічних і фізико-хімічних методів кількісного аналізу безпосередньому вимірюванню піддається деяка величина y , що є лінійною функцією шуканої концентрації (кількості) x визначуваної речовини або елемента. Інакше кажучи, в основі таких методів аналізу лежить існування лінійної залежності:

$$y = bx + a, \quad (7.1)$$

де y — вимірювана величина;
 x — концентрація (кількість) визначуваної речовини або елемента;
 b — кутовий коефіцієнт лінійної залежності;
 a — вільний член лінійної залежності.

Для використання залежності (7.1) з аналітичною метою, тобто для визначення конкретної величини x за виміряним значенням y , слід заздалегідь знайти числові значення констант b і a , тобто провести калібрування. Іноді константи функції (7.1) мають той чи інший фізичний зміст, і їхні значення мають оцінюватися з урахуванням відповідного довірчого інтервалу. Якщо калібрування проведене і значення констант a і b визначені, величину x знаходять за виміряним значенням y :

$$x = \frac{1}{b} \times y - \frac{a}{b} \quad (7.2)$$

При калібруванні величину x розглядають як аргумент, а величину y — як функцію. Наявність лінійної залежності між x і y не завжди є очевидною. Через ці причини експериментальні дані, одержані при калібруванні, у першу чергу використовують для оцінки жорсткості, тобто ступеня не випадковості лінійного зв'язку між x і y , і лише потім визначають значення констант a і b та їхні довірчі інтервали. У першому наближенні робити висновок про жорсткість лінійного зв'язку між змінними x і y можна за величиною лінійного коефіцієнта кореляції (або просто коефіцієнта кореляції) r , що обчислюють за формулою:

$$r = \frac{n \times \sum_{i=1}^n x_i \times y_i - \sum_{i=1}^n x_i \times \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{[n \times \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2] [n \times \sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2]}} \quad (7.3)$$

виходячи з експериментальних даних.

Лінійний коефіцієнт кореляції може змінюватися від -1 до $+1$. Позитивні значення r вказують на

Таблиця 6.2

збільшення, негативні — на зменшення у із збільшенням x .

Лінійний коефіцієнт кореляції r є окремим випадком загального індексу кореляції R_c , який застосовний для будь-якого числа незалежних змінних (аргументів) у рівнянні (7.1), а також для нелінійних кореляцій між залежними і незалежними змінними:

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{s_0^2}{s_y^2}}, \quad (7.3a)$$

де s_0 — залишкове стандартне відхилення (рівняння 7.7);

s_y — стандартне відхилення величин y_i щодо середнього значення \bar{y} (рівняння 7.15); розраховують із використанням рівняння (1.5).

Рівняння (7.3a), через свою простоту, наочність, а також загальність застосування для будь-яких кореляцій, зазвичай використовують замість співвідношення (7.3) у разі, якщо знак коефіцієнта кореляції не має значення. Зокрема, при проведенні валідаційних досліджень (дивіться 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань») наводяться вимоги до коефіцієнта кореляції у формі (7.3a).

Слід відзначити, що в рівнянні (7.3a) залишкове стандартне відхилення s_0 у загальному випадку має $v = m - k$ ступенів свободи, де k — кількість параметрів у кореляційній залежності. Зокрема, для лінійної залежності (7.1) $v = m - 2$ ступенів свободи — дивіться рівняння (7.6–7.7). У той же час, лінійний коефіцієнт кореляції (7.3) отриманий для s_0 , яке має $v = m - 1$ ступенів свободи. Співвідношення між r і R_c у випадку лінійної залежності (7.1) мають вигляд:

$$|r| = \sqrt{1 - \frac{m-2}{m-1} \times (1 - R_c^2)}, \quad (7.3b)$$

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{m-1}{m-2} \times (1 - r^2)}. \quad (7.3c)$$

Рівняння (7.3) дає значення r , які дещо вищі, ніж значення R_c , розраховані за рівнянням (7.3a). Ця різниця може бути помітною при малих ступенях свободи v . Так, для $R_c = 0.99$ (таке значення є досить стандартним при проведенні валідації аналітичних методик — див. 5.3.N.2) отримаємо $r = 0.9925$ для $m = 5$ і $r = 0.9913$ для $m = 9$.

Тому доцільно користуватися більш загальним і коректним рівнянням (7.3a) для загального індексу кореляції R_c .

Чим ближче R_c або абсолютна величина $|r|$ до одиниці, тим менш випадкова спостережувана лінійна залежність між змінними x і y .

Коефіцієнт кореляції r використовується зазвичай для виявлення стохастичного взаємозв'язку між величинами, функціональна залежність між якими може бути і відсутня. Коефіцієнт кореляції є значу-

щим, якщо його величина для даної ймовірності P і числа ступенів свободи v перевищує значення, наведені в Табл. 10.6. В іншому разі не можна говорити про існування значимих залежностей (7.1–7.2).

Значущість коефіцієнта кореляції є обов'язковою, але не достатньою умовою використання рівнянь (7.1–7.2) для вирішення конкретної аналітичної задачі (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань»). Як видно з рівняння (7.3a), коефіцієнт кореляції залежить від аналітичного діапазону (величина s_y) і залишкового стандартного відхилення s_0 , критичні значення якого визначаються допусками вмісту (див. 5.3.N.2). У фармацевтичному аналізі в більшості випадків для кількісного визначення використовують лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції $|r| \geq 0.99$ (при відповідності вимогам Табл. 10.6) і навіть для контролю домішок — $|r| \geq 0.97$ (див. 5.3.N.2).

Коефіцієнти a і b та інші метрологічні характеристики залежності (7.1) розраховують з використанням методу найменших квадратів за експериментально вимірними значеннями змінної y для заданих значень аргументу x . Нехай знайдені у результаті експерименту пари значень аргументу x і функції y представлені в Табл. 7.1.

Таблиця 7.1

i	x_i	y_i
1	x_1	y_1
2	x_2	y_2
...
m	x_m	y_m

Якщо величини y_i мають однакову невизначеність (а таке допущення зазвичай виконується для досить вузького діапазону варіювання величин y_i), то:

$$b = \frac{m \times \sum_{i=1}^m x_i \times y_i - \sum_{i=1}^m x_i \times \sum_{i=1}^m y_i}{m \times \sum_{i=1}^m x_i^2 - (\sum_{i=1}^m x_i)^2}, \quad (7.4)$$

$$a = \frac{\sum_{i=1}^m y_i - b \times \sum_{i=1}^m x_i}{m}, \quad (7.5)$$

$$v = m - 2. \quad (7.6)$$

Якщо одержані значення коефіцієнтів a і b використовувати для обчислення значень y за заданими в Табл. 7.1 значеннями аргументу x згідно з залежністю (7.1), обчислені значення y позначають через $Y_1, Y_2, \dots, Y_i, \dots, Y_n$. Розкид значень y_i відносно значень Y_i характеризує величина залишкової дисперсії s_0^2 , яку розраховують за рівнянням:

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^m (y_i - Y_i)^2}{v} = \frac{\sum_{i=1}^m y_i^2 - a \times \sum_{i=1}^m y_i - b \times \sum_{i=1}^m x_i y_i}{v}. \quad (7.7)$$

Для того щоб рівняння (7.1–7.2) адекватно описували експериментальні дані, необхідно, щоб залишкова дисперсія s_0^2 не відрізнялася значущо за критерієм

Фішера (співвідношення (3.1–3.4)) від дисперсії відтворюваності (збіжності) величин y_i . Остання може бути знайдена експериментально або прогнозована (див. розділ 9) з паспортних даних обладнання.

У свою чергу дисперсії констант b і a розраховують за рівняннями:

$$s_b^2 = \frac{m \times s_y^2}{m \times \sum_{j=1}^m x_j^2 - (\sum_{j=1}^m x_j)^2}, \quad (7.8)$$

$$s_a^2 = \frac{s_y^2}{m} \times \sum_{j=1}^m x_j^2, \quad (7.9)$$

Стандартні відхилення s_b і s_a і величини Δ_b і Δ_a , необхідні для оцінки довірчих інтервалів констант, розраховують за рівняннями:

$$s_b = \sqrt{s_b^2}, \quad (7.10)$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2}, \quad (7.11)$$

$$\Delta_b = t(P_2, \nu) \times s_b,$$

$$\Delta_a = t(P_2, \nu) \times s_a.$$

Коефіцієнти a і b мають значущо відрізнятися від нуля, тобто перевищувати відповідно величини Δ_a і Δ_b .

Рівняння (7.1) із константами a і b обов'язково задовольняє точка з координатами \bar{x} і \bar{y} , яку називають центром калібрувальної кривої:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{j=1}^m x_j}{m}, \quad (7.14)$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_{j=1}^m y_j}{m}. \quad (7.15)$$

Найменші відхилення значень y_i від значень Y_i спостерігаються довкола центра кривої. Стандартні відхилення s_y і s_x величин y і x , розрахованих відповідно за рівняннями (7.1) і (7.2), виходячи з відомих значень x і y , визначають з урахуванням віддалення останніх від координат центра кривої:

$$s_y = \sqrt{s_y^2 \times \left[\frac{1}{m} + \frac{m \times (x - \bar{x})^2}{m \times \sum_{j=1}^m x_j^2 - (\sum_{j=1}^m x_j)^2} \right]}, \quad (7.16)$$

$$s_x = \sqrt{s_x^2 \times \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} + \frac{m \times (\bar{y}_j - \bar{y})^2}{b^2 \left[m \times \sum_{j=1}^m x_j^2 - (\sum_{j=1}^m x_j)^2 \right]} \right]}, \quad (7.17)$$

де \bar{y}_j — середнє значення;
 n_j — число варіант, використаних при визначенні \bar{y}_j .

При $x = \bar{x}$ і $\bar{y}_j = \bar{y}$:

$$s_y = \sqrt{\frac{s_y^2}{m}}, \quad (7.16a)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_x^2}{b^2} \times \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} \right]}.$$

Із урахуванням значень s_y і s_x можуть бути знайдені значення величин Δ_y і Δ_x .

$$\Delta_y = s_y \times t(P_2, \nu), \quad (7.18)$$

$$\Delta_x = s_x \times t(P_2, \nu). \quad (7.19)$$

Значення s_x і Δ_x , знайдені при $n_j = 1$, є характеристиками відтворюваності (збіжності) аналітичної методики, якщо x — концентрація, а y — функція x .

Зазвичай результати статистичної обробки за методом найменших квадратів зводять у Табл. 7.2.

Примітка 1. Якщо метою експериментальної роботи було визначення констант b і a , стовпчики 11, 12 і 13 Табл. 7.2 не заповнюються.

Примітка 2. Якщо $y = b \lg x + a$, обчислення, описані в розділі 7, виконують із використанням рівнянь (1.8), (1.9), (1.29–1.32).

Примітка 3. Порівняння дисперсій s_y^2 , одержаних за різних умов для двох лінійних залежностей, може бути проведене, як зазначено в розділі 3.

8. ПРИКЛАДИ

8.1. ОБЧИСЛЕННЯ СЕРЕДНЬОГО ЗНАЧЕННЯ ТА ДИСПЕРСІЇ

При визначенні вмісту стрептоциду в лініменті стрептоциду були одержані такі дані.

$$n = 5; \nu = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

Таблиця 7.2

Результати статистичної обробки експериментальних даних, одержаних при вивченні лінійної залежності вигляду $y = bx + a$

ν	\bar{x}	\bar{y}	b	a	$t(P_2, \nu)$ при $P_2 = 95\%$	Δ_b	Δ_a	s_y^2	R_c	s_x при $n_j = 1$ $y_j = \bar{y}$	Δ_x	$\frac{\Delta_y \times 100}{\bar{x}}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Таблиця 8.1

<i>i</i>	1	2	3	4	5
$x_i, \%$	9.52	9.55	9.83	10.12	10.33

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{9.52 + 9.55 + 9.83 + 10.12 + 10.33}{5} = 9.87,$$

$d_i = |x_i - \bar{x}| = |x_i - 9.87|$ тобто $d_1 = |9.52 - 9.87| = 0.35$ тощо.

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^2}{v} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \times \bar{x}^2}{v} = \frac{(9.52^2 + 9.55^2 + 9.83^2 + 10.12^2 + 10.33^2) - 5 \times 9.87^2}{4} = 0.1252,$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0.1252} = 0.3538,$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} = \frac{0.3538}{9.87} = 0.03585,$$

$$RSD = s_r \times 100 = 3.59\%,$$

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.3538}{\sqrt{5}} = 0.1582,$$

$$s_{x_r} = \frac{s_x}{\bar{x}} = \frac{0.1582}{9.87} = 0.01603,$$

$$RSD_x = s_{x_r} \times 100 = 1.60\%.$$

8.2. ПЕРЕВІРКА ОДНОРІДНОСТІ ВИБІРКИ МАЛОГО ОБСЯГУ

При проведенні дев'яти ($n = 9$) визначень вмісту загального азоту у плазмі крові щурів були одержані такі дані (у порядку зростання).

За рівняннями (1.10) і (1.11а) обчислюємо:

$$R = |x_1 - x_{n-1}| = |0.62 - 0.98| = 0.36,$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} = \frac{|0.62 - 0.81|}{0.36} = 0.53,$$

За Табл. 10.1 Додатка обчислюємо:

$$Q(95\%; 9) = 0.46 < Q_1 = 0.53$$

$$Q(99\%; 9) = 0.55 > Q_1 = 0.53$$

Отже, гіпотеза про те, що значення $x_1 = 0.62$ має бути виключене з розглядуваної сукупності результатів вимірів як обтяжене грубою похибкою, може бути прийнята з довірчою ймовірністю 95%, але має бути відкинута, якщо обране значення довірчої ймовірності дорівнює 99%.

8.3. ОБЧИСЛЕННЯ ДОВІРЧИХ ІНТЕРВАЛІВ І НЕВИЗНАЧЕНОСТЕЙ ВИМІРЮВАНЬ

У результаті визначення вмісту бензохінону в стандартному зразку хінгідрону були одержані такі дані ($n = 10$).

Обчислення за формулами (1.2, 1.4–1.7) дали такі результати:

$$\bar{x} = 49.96; v = 9; s^2 = 0.01366; s = 0.1169; s_r = 0.03696.$$

Довірчі інтервали результату окремого визначення і середнього результату при $P_2 = 95\%$ одержуємо відповідно до (1.22) і (1.25):

$$x_i \pm \Delta_x = x_i \pm t(P_2, v) \times s = x_i \pm t(95\%, 9) \times s = x_i \pm 2.262 \times 0.1169 = x_i \pm 0.26,$$

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \frac{t(P_2, v) \times s}{\sqrt{n}} = 49.96 \pm \frac{2.262 \times 0.1169}{\sqrt{10}} = 49.96 \pm 0.08.$$

Тоді відносні невизначеності ε і $\varepsilon_{\bar{x}}$, відповідно до (1.28) і (1.28а), дорівнюють:

$$\varepsilon = \frac{\Delta_x}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0.26}{49.96} \times 100\% = 0.53\%,$$

$$\varepsilon_{\bar{x}} = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0.08}{49.96} \times 100\% = 0.17\%.$$

Позначаючи істинний вміст бензохінону в хінгідроні через μ , можна вважати, що з 95% довірчою ймовірністю справедливі нерівності:

$$\mu - 0.26 \leq x_i \leq \mu + 0.26,$$

$$x_i - 0.26 \leq \mu \leq x_i + 0.26 \text{ (при будь-якому } i),$$

$$\mu - 0.08 \leq \bar{x} \leq \mu + 0.08,$$

Таблиця 8.2

<i>i</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$x_i, \%$	0.62	0.81	0.83	0.86	0.87	0.90	0.94	0.98	0.99

Таблиця 8.3

<i>i</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$x_i, \%$	49.80	49.83	49.87	49.87	49.92	50.01	50.05	50.06	50.10	50.11

$$\bar{x} - 0.08 \leq \mu \leq \bar{x} + 0.08 \text{ (при } n = 10\text{)}.$$

8.4. ПЕРЕВІРКА ГІПОТЕЗИ РІВНОСТІ ДИСПЕРСІЙ

8.4.1. Об'єднання результатів вибірок, різних за обсягом

У процесі проведення внутрішньолабораторних досліджень невизначеності методики титрування субстанції кислоти ацетилсаліцилової чотирма (тобто $g = 4$, $\nu_x = 3$) різними аналітиками одержані середні значення \bar{x}_k і відносні стандартні відхилення ($RSD_k\%$) для зазначеного числа випробувань (n_k), які представлені в Табл. 8.4.

Чи можна вважати дані RSD_k вибірками з однієї генеральної сукупності та які об'єднане \bar{x} і RSD_p ?

Спочатку перевіряють гіпотезу рівності дисперсій, тобто що всі RSD_k є вибірками з однієї генеральної сукупності.

Величину ν_p обчислюють за формулою (1.15):

$$\nu_p = \sum_{k=1}^g \nu_k = 4 + 6 + 8 + 7 = 25.$$

RSD_p^2 обчислюють за формулою (1.14b):

$$RSD_p^2 = \frac{\sum_{k=1}^g \nu_k \times RSD_k^2}{\nu_p} = \frac{4 \times 0.3^2 + 6 \times 0.8^2 + 8 \times 0.7^2 + 7 \times 0.9^2}{25} = 0.552.$$

χ^2 обчислюють за формулою (1.17):

$$\chi^2 = 2.303 \times \left(\nu_p \times \lg RSD_p^2 - \sum_{k=1}^g \nu_k \times \lg RSD_k^2 \right) = 2.303 \times \left(25 \times \lg 0.552 - (4 \times \lg 0.09 + 6 \times \lg 0.64 + 8 \times \lg 0.49 + 7 \times \lg 0.81) \right) = 4.62.$$

Табличне значення (за Табл. 10.4) $\chi^2(P_1 = 95\%, \nu_x = 3) = 7.815 > 4.62$.

Отже, значення χ^2 менше критичного, тому можна прийняти гіпотезу про рівність дисперсій.

Значення χ^2 менше критичного, і тому немає необхідності в розрахунку коригувального фактора C

і величини χ^{*2} . Для ілюстрації ці величини обчислюють за формулою (1.18):

$$C = \frac{[(1/4) + (1/6) + (1/8) + (1/7)] - (1/25)}{3 \times (4-1)} + 1 = 1.072, \\ \chi^{*2} = \chi^2 / C = 4.62 / 1.072 = 4.31.$$

Як видно, значення χ^{*2} менше критичного значення (7.815), що підтверджує гіпотезу про рівність дисперсій.

Обчислюють об'єднане RSD_p :

$$RSD_p = \sqrt{RSD_p^2} = \sqrt{0.552} = 0.74\%$$

Об'єднане середнє \bar{x} за всіма чотирма вибірками обчислюють за формулою (1.16):

$$\bar{x} = \frac{99.9 \times 5 + 99.4 \times 7 + 99.2 \times 9 + 99.3 \times 8}{5 + 7 + 9 + 8} = 99.4\%$$

Таким чином, за даними внутрішньолабораторних випробувань, відносне стандартне відхилення титрування субстанції кислоти ацетилсаліцилової дорівнює 0.74 %, а її вміст — 99.4 %.

8.4.2. Об'єднання результатів вибірок, однакових за обсягом

При аналізі методом ВЕРХ п'яти різних серій (тобто $g = 5$) лікарського засобу одержані такі значення відносних стандартних відхилень ($RSD_i\%$) площ піків при 3-разовому (тобто $n = 3$) хроматографуванні розчинів кожної серії:

1.08 %; 0.60 %; 0.43 %, 1.59 % і 0.71 %.

Чи можна об'єднувати дані вибірки (результати аналізу п'яти серій) і яке об'єднане відносне стандартне відхилення?

Оскільки в нашому випадку число ступенів свободи для всіх п'яти вибірок (серій) однакове і дорівнює $\nu = n - 1 = 3 - 1 = 2$, для перевірки гіпотези рівності дисперсій застосовують критерій Кокрена (див. розділ 1.3.3 і Табл. 10.4). При $s_{max} = 1.59\%$, $\nu = 2$, $g = 5$, співвідношення (1.19) дає:

Таблиця 8.4

вibірка	\bar{x}_k	$RSD_k\%$	n_k	ν_k	ν_p	RSD_p^2	$RSD_p\%$	χ^2	C	χ^{*2}	Табличне $\chi^2(P_1 = 95\%, \nu_x = 3)$
1	99.9	0.3	5	4	25	0.552	0.74	4.62	1.072	4.31	7.815
2	99.4	0.8	7	6							
3	99.2	0.7	9	8							
4	99.3	0.9	8	7							

$$G = \frac{\sum_{k=1}^5 s_k^2}{\sum_{k=1}^5 v_k} = \frac{1.59^2}{1.08^2 + 0.60^2 + 0.43^2 + 1.59^2 + 0.71^2} = 0.533 < 0.684 = G(P=95\%; 2, 5)$$

Як видно, розраховане значення G менше табличного на 95 % рівні значущості. Отже, дані вибірки можна об'єднати.

Об'єднане число ступенів свободи обчислюють за формулою (1.15):

$$v_p = \sum_{k=1}^5 v_k = 5 \times 2 = 10.$$

Об'єднане відносне стандартне відхилення (RSD_p) обчислюють за формулою (1.14b):

$$RSD_p^2 = \frac{\sum_{k=1}^5 v_k \times RSD_k^2}{v_p} = \frac{2 \times (1.08^2 + 0.60^2 + 0.43^2 + 1.59^2 + 0.71^2)}{10} = 0.9510.$$

Звідси $RSD_p = \sqrt{0.9510} = 0.98$.

8.5. ПОРІВНЯННЯ ДВОХ МЕТОДИК АНАЛІЗУ ЗА ПРЕЦИЗІЙНІСТЮ І ПРАВИЛЬНІСТЮ РЕЗУЛЬТАТІВ. СТАТИСТИЧНА І ПРАКТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ СИСТЕМАТИЧНОЇ ПОХИБКИ

8.5.1. Збіжність та наявність статистично значущої систематичної похибки

Нехай для двох вибірок аналітичних даних (1 і 2), що характеризують, наприклад, різні методики аналізу лікарського засобу з допусками 90–110% від номінального вмісту, одержані метрологічні характеристики, наведені в стовпчиках 1–10 Табл. 8.5.

Для заповнення стовпчика 10 обчислюють значення t_1 і t_2 :

$$t_1 = \frac{|\mu - x_1| \times \sqrt{v_1}}{s_1} = \frac{|100 - 100.74| \times \sqrt{11+1}}{1.20} = 2.14,$$

$$t_2 = \frac{|\mu - x_2| \times \sqrt{v_2}}{s_2} = \frac{|100 - 99.65| \times \sqrt{12+1}}{0.33} = 3.82.$$

Оскільки $t_1 = 2.14 < t_{(95\%, 11)} = 2.20$, гіпотеза $|\mu_1 - \mu_2| \neq 0$ може бути відкинута, що дозволяє вважати результати вибірки 1 вільними від систематичної похибки.

Навпаки, оскільки $t_2 = 3.82 \gg t_{(95\%, 12)} = 2.18$, гіпотезу $|\mu_2 - \mu_1| \neq 0$ визнають статистично вірогідною, що свідчить про наявність систематичної похибки в результатах вибірки 2. У стовпчик 13 вносять:

$$\delta_2 = \frac{|\mu_1 - x_2|}{\mu_1} \times 100\% = \frac{|100 - 99.65|}{100} \times 100\% = 0.35\%.$$

Заповнюють стовпчики 11 і 12:

$$(99\%; 11; 12) = 4.22,$$

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{1.20^2}{0.33^2} = 13.22,$$

$$F = 13.22 \gg F(99\%; 11; 12) = 4.22.$$

Отже, при $P_1 = 99\%$ гіпотезу про розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 слід визнати статистично вірогідною.

Висновки щодо збіжності і наявності статистично значущої систематичної похибки:

- результати, одержані з використанням першої методики, є правильними, тобто вони не обтяжені систематичною похибкою;
- результати, одержані з використанням другої методики, обтяжені систематичною похибкою;
- за прецизійністю друга методика значно краща за першу.

8.5.2. Наявність практично значущої систематичної похибки

Згідно з рекомендаціями Табл. 5 загальної статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань», при кількісному визначенні готових лікарських засобів з допусками 90–110% від номінального вмісту систематична похибка є практично незначущою, якщо вона не перевищує 1.02%. У випадку другої методики, згідно з Табл. 9.5, ми маємо:

$$\delta_2 = 0.35 < 1.02\%.$$

Отже, друга методика обтяжена систематичною похибкою, яка є статистично значущою, але є практично незначущою для контролю якості лікарського засобу з допусками вмісту 90–100% від номінального значення.

Даний приклад добре ілюструє недостатність тільки статистичної оцінки значущості систематичної

Таблиця 8.5

Вибірка	μ	v	\bar{x} , %	S	P_2 , %	$t(P_2, v)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{обч}$	$F(P_1, v_1, v_2)$ (табл.) $P = 99\%$	$F_{обч}$	δ %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	100	11	100.74	1.20	95	2.20	2.64	2.62	2.14	4.22	13.22	-
2	100	12	99.65	0.33	95	2.18	0.72	0.72	3.82	-	-	0.35

похибки для оцінки придатності аналітичної методики для контролю якості. Перша методика має вдвічі більшу систематичну похибку ($\delta_1 = 0.74\%$), ніж друга методика ($\delta_2 = 0.35\%$), але за рахунок значно гіршої прецизійності ($s_1 = 1.20\%$), ніж у першій методиці ($s_2 = 0.33\%$), систематична похибка в першій методиці маскується і є статично незначущою. У другій методиці, за рахунок високої прецизійності, систематична похибка є статистично значущою, хоча вона майже вдвічі менша, ніж в першій методиці. Застосування практичної значущості систематичної похибки дозволяє вирішити цю проблему.

Висновок:

Для контролю якості лікарського засобу з допусками вмісту 90–110 % від номінального значення, друга методика значно краще підходить для вирішення поставленої аналітичної задачі, ніж перша.

8.6. ПОРІВНЯННЯ СЕРЕДНІХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДВОХ ВИБІРОК

8.6.1. Використання дисперсій

При визначенні вмісту основної речовини у двох зразках препарату, виготовлених за різною технологією, одержані метрологічні характеристики середніх результатів, які наведені в Табл. 8.6. Слід вирішити, чи є перший зразок за даним показником кращим порівнюючи з другим зразком.

Оскільки $F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0.31}{0.25} = 1.24 < F(95\%, 5, 7) = 3.97$,

згідно з нерівністю (3.3) статистично вірогідне розходження величин \bar{x}_1 і \bar{x}_2 відсутнє.

Отже, гіпотеза $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ (5.1) перевіряється за допомогою рівнянь (1.14), (1.15), (5.2) та (5.3).

$$s_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^k [(n_i - 1) \times s_i^2]}{\sum_{i=1}^k (n_i - 1)} = \frac{v_1 \times s_1^2 + v_2 \times s_2^2}{v_1 + v_2} = \frac{7 \times 0.25 + 5 \times 0.31}{7 + 5} = 0.275$$

$$s_p = \sqrt{s_p^2} = \sqrt{0.275} = 0.524$$

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{s_p^2 \times (n_1 + n_2)}{n_1 \times n_2} = \frac{0.275 \times (8 + 6)}{8 \times 6} = 0.0802$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{s_{\bar{x}}^2} = \sqrt{0.0802} = 0.283$$

$$v = n_1 + n_2 - 2 = 8 + 6 - 2 = 12,$$

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{\bar{x}}} = \frac{|99.10 - 98.33|}{0.283} = 2.72,$$

$$t = 2.72 > t(95\%; 12) = 2.18,$$

$$t = 2.72 < t(99\%; 12) = 3.08.$$

Отже, із довірчою ймовірністю $P_2 = 95\%$ гіпотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ може бути прийнята (тобто перший зразок краще другого за вмістом основної речовини). Однак з довірчою ймовірністю $P_2 = 99\%$ прийняти цю гіпотезу не можна через недостатність інформації.

Якщо гіпотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ прийнята, визначають довірчий інтервал різниці генеральних середніх $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ (рівняння (5.10)):

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| - t(P_2, v) \times s_p \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + t(P_2, v) \times s_p$$

$$(P_2 = 95\%; v = 12),$$

$$|99.10 - 98.33| - 2.18 \times 0.283 \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \leq |99.10 - 98.33| + 2.18 \times 0.283$$

$$0.15 \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \leq 1.39.$$

8.6.2. Використання максимально допустимої невизначеності

При проведенні кількісного визначення таблеток парацетамолу 0.2 г методом абсорбційної спектрофотометрії за валідованою фармакопейною методикою в різних лабораторіях були отримані такі результати: 98.2 і 96.1 % від номінального вмісту. Різниця між результатами становить $|x_2 - x_1| = |96.1 - 98.2| = 2.1\%$.

Відповідно до специфікації, допуски вмісту парацетамолу становлять $\pm 5.0\%$ від номінального вмісту. Чи можна вважати різницю 2.1 % між результатами різних лабораторій статистично значущою з погляду валідованої методики?

Відповідно до загальної статті 2.2.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань», максимально допустима невизначеність методики кількісного визначення готового лікарського засобу з допусками вмісту $\pm 5.0\%$ становить $\max \Delta_{A_s} = 0.32 \times 5.0 = 1.6\%$. Співвідношення (5.13) тоді буде мати вигляд $|x_2 - x_1| \leq \sqrt{2} \times 1.6 = 2.3\%$, що перевищує фактичну різницю (2.1 %). Отже, різницю між результатами двох різних лабораторій не можна вважати статистично значущою.

Таблиця 8.6

Зразок	n	v	\bar{x} , (%)	s	$s_{\bar{x}}$	P_2 , (%)	$t(P_2, v)$	Δx	$\Delta \bar{x}$	E , (%)
0	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11
1	8	7	99.10	0.50	0.18	95	2.36	1.18	0.42	0.42
2	6	5	98.33	0.56	0.23	95	2.57	1.44	0.59	0.60

8.7. ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ

8.7.1. Кваліфікація градуйованої піпетки місткістю 5 мл

Кваліфікацію піпетки проводили для об'ємів 1, 2, 3, 4 і 5 мл, які охоплюють весь її діапазон і найчастіше використовуються на практиці.

Кваліфікація проводилася за такою схемою. Піпетку заповнювали водою до відповідного об'єму і виливали в зважену конічну колбу, яку потім знову зважували. За різницею встановлювали масу води, яку перераховували на фактичну місткість піпетки. Операцію повторювали ще 4 рази. Для кожного об'єму розраховували стандартне відхилення. Усі п'ять отриманих стандартних відхилень об'єднували (s_p) за формулами (1.14–1.15). Об'єднане число ступенів свободи $\nu_p = 5 \times 4 = 20$. Метрологічна обробка результатів представлена в Табл. 8.7.

Вихідні дані для розрахунків

Температура води — 19.5 °С, відносна густина води при цьому становить 0.99833 г/мл.

Вимоги ISO для градуйованих піпеток класів А і AS об'ємом 5 мл: відхилення (ΔV) фактичного об'єму від номінального об'єму для кожної позначки не має перевищувати 0.030 мл, тобто $\Delta V \leq \max \Delta_{ISO} = 0.030$ мл. Відповідно до співвідношення (6.2), отримуємо вимоги до невизначеності верифікації (Δ_{verif}):

$$\Delta_{verif} \leq \max \Delta_{verif} = 0.32 \times 0.030 = 0.0096 \text{ мл.}$$

Фактичне значення Δ_{verif} розраховували за рівнянням (6.3), де покладали: $n = 5$, $\nu_p = 20$, $t(95\%, 20) = 1.724$.

Як видно з Табл. 8.7, піпетка витримує вимоги ISO, тобто для кожного з перевірених об'ємів виконуються вимоги $\Delta V < 0.030$ мл = $\max \Delta_{ISO}$. При цьому забезпечується якість результату кваліфікації, оскільки $\Delta_{verif} = 0.0046$ мл < 0.0096 мл = Δ_{verif} .

8.8. ГАРАНТУЮЧІ ДОПУСКИ

Допуски вмісту діючої речовини в готовому лікарському засобі (ГЛЗ) знаходяться в межах ($100 \pm 5\%$), тобто $100 - X_{Low} = 95\%$, $100 + X_{High} = 105.0\%$ (див. рівняння (6.4)). Для отримання гарантуючих допусків вмісту діючої речовини можливе використання різних підходів.

Таблиця 8.7

Результати проведення кваліфікації піпеток з однією позначкою об'ємом 5 мл

Об'єм, мл	Маса, г	Фактичний об'єм, V, мл	Середнє, \bar{V} , мл	Стандартне відхилення, S_{verif} , мл	$ \Delta V $ мл ≤ 0.030
1.0	0.99290	0.99456			
	0.99312	0.99478			
	0.99294	0.99460			
	0.99890	1.00057			
	0.99125	0.99291	0.99548	0.0029	0.0045
2.0	2.00222	2.00557			
	1.99155	1.99488			
	2.00241	2.00576			
	1.99360	1.99693			
3.0	1.98778	1.99111	1.99885	0.0066	0.0011
	2.98079	2.98578			
	2.98677	2.99177			
	2.99007	2.99507			
	2.97754	2.98252			
4.0	2.98138	2.98637	2.98830	0.0050	0.0117
	3.99944	4.00613			
	3.99981	4.00650			
	3.98321	3.98987			
5.0	3.98135	3.98801			
	3.98943	3.99610	3.99732	0.0087	0.0027
	5.00429	5.01266			
	4.99993	5.00829			
	4.99555	5.00391			
	4.99393	5.00228			
	4.99238	5.00073	5.00558	0.0049	0.0056
	Об'єднане стандартне відхилення, $s_p =$				0.0060
$\Delta_{verif} = 1.724 \times 0.00595/\sqrt{5} =$				0.0046 ≤ 0.0096	

8.8.1. Метрологічно атестована методика

У конкретній лабораторії підприємства проведена метрологічна атестація методики аналізу і знайдено генеральне відносне стандартне відхилення, яке дорівнює $RSD_{As} = 1.2\%$.

Згідно з рівняннями (6.7–6.8), для випробуваного зразка продукції середній результат аналізу у відсотках до номінального значення (X) при проведенні n паралельних визначень має знаходитися в гарантуючих межах:

$$100 - B_{L_{\alpha}} + \frac{U(R) \times RSD_{As}}{\sqrt{n}} \leq X \leq 100 + B_{U_{\alpha}} - \frac{U(R) \times RSD_{As}}{\sqrt{n}}$$

Для забезпечення якості ГЛЗ з надійністю $P_1 = 99\%$ результати аналізу при випуску продукції для $n = 3$ мають знаходитися в межах:

$$95.0 + \frac{2.33 \times 1.20}{\sqrt{3}} < X < 105.0 - \frac{2.33 \times 1.20}{\sqrt{3}};$$
$$96.61\% \leq X \leq 103.39\%$$

Для надійності $P_1 = 95\%$ гарантуючі допуски відповідно будуть:

$$95.0 + \frac{1.65 \times 1.20}{\sqrt{3}} \leq X \leq 105.0 - \frac{1.65 \times 1.20}{\sqrt{3}};$$
$$96.14\% \leq X \leq 103.86\%$$

Відзначимо, що ці результати є дійсними тільки для даної лабораторії.

8.8.2. Валідована методика

Цей підхід спирається на загальну статтю 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань».

Повна невизначеність методики аналізу при симетричних допусках $(100 \pm B)\% = 95.0 - 105.0\%$ не має перевищувати в нашому випадку величини:

$$\Delta_{As} \leq 0.32 \times B = \max \Delta_{As} = 0.32 \times 5.0 = 1.6\%$$

Для надійності $P_1 = 95\%$ гарантуючі допуски будуть:

$$95.0 + 1.6 \leq X \leq 105.0 - 1.6,$$
$$96.6\% \leq X \leq 103.4\%$$

Відзначимо, що ці гарантуючі допуски є коректними тільки для однорідних ГЛЗ (розчинів, ін'єкцій тощо).

8.8.3. Урахування факторів неоднорідності для дозованих одиниць

При проведенні валідації технології виробництва таблеток отримані такі значення: генеральне середнє вмісту $X_0 = 99.0\%$, генеральне відносне стандартне відхилення неоднорідності вмісту таблеток $RSD_{unif} = 4.0\%$. Відповідно до (6.13), довірчий інтервал фактора неоднорідності дорівнює $\Delta_{unif} = 0.37 \times 4.0 = 1.5\%$.

Оскільки допуски вмісту за специфікацією є $95.0 - 105.0\%$, то $\max \Delta_{As} = 1.6\%$ (див. вище).

Беручи це до уваги, згідно зі співвідношенням (6.14), для надійності $P_1 = 95\%$ гарантуючі допуски будуть:

$$99.0 - 1.5 - 1.6 \leq X \leq 99.0 + 1.5 + 1.6,$$
$$95.9\% \leq X \leq 102.1\%$$

Критичним є гарантуючий допуск 95.9% , бо він близький до нижнього допуску специфікації 95.0% .

8.8.4. Граничні допуски вмісту за специфікацією для дозованих одиниць

Зазвичай кількісне визначення дозованих одиниць (зокрема, таблеток) проводиться з порошку 20 одиниць, тобто $n = 20$. Для дозованих готових лікарських засобів найбільш жорсткі вимоги для невизначеності методики аналізу дорівнюють $\max \Delta_{As} = 1.6\%$ (див. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» (Таблиця 3)).

Згідно з вимогами статті 2.9.40 «Однорідність дозованих одиниць», максимальне допустиме значення відносного довірчого інтервалу неоднорідності вмісту діючої речовини в окремих дозованих одиницях ($\max \Delta_{unif}$) дорівнює $L1 = 15\%$.

Тоді зі співвідношення (6.15) отримаємо найбільш жорсткі гарантуючі допуски вмісту діючої речовини за специфікацією для дозованих готових лікарських засобів:

$$100 - \frac{15}{\sqrt{20}} - 1.6 \leq X \leq 100 + \frac{15}{\sqrt{20}} + 1.6,$$
$$95.0\% \leq X \leq 105.0\%$$

Як видно, найбільш жорсткі гарантуючі допуски співпадають з допусками специфікації $95.0 - 105.0\%$. Отже з урахуванням факторів неоднорідності допуски кількісного вмісту $95.0 - 105.0\%$ для дозованих одиниць можна вважати граничними.

Крім того, цей приклад показує, що у випадку допусків специфікації $95.0 - 105.0\%$ для отримання гарантуючих допусків необхідно мати технологію з довірчим інтервалом неоднорідності вмісту діючої речовини вдвічі меншим, ніж $L1 = 15\%$.

8.9. ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ТЕСТУВАННЯ

8.9.1. Внутрішньолабораторне тестування персоналу за результатами верифікації градуйованої піпетки місткістю 5 мл

Проведення внутрішньолабораторного тестування персоналу доцільно поєднати з верифікацією піпеток. При цьому виконання вимог (6.2) до довірчого інтервалу верифікації є підтвердженням відповідності учасника тестування вимогам атестації.

Зокрема, у випадку верифікації градуйованої піпетки місткістю 5 мл (див. розділ 8.7.1) було отримано:

$$\Delta_{\text{verif}} = 0.0046 < \max \Delta_{\text{verif}} = 0.0096.$$

Як видно, виконуються вимоги співвідношення (6.2). Отже, учасник внутрішньолабораторного тестування відповідає вимогам атестації.

8.9.2. Зовнішнє тестування: визначення домішки В лінкоміцину в тестовому зразку лінкоміцину методом ВЕРХ

Згідно з вимогами специфікації на субстанцію лінкоміцину гідрохлориду, вміст домішки В не має перевищувати 5.0 %. Визначення проводиться методом ВЕРХ в межах тестів «Випробування на чистоту».

Дане випробування в специфікації є граничним. Крім того, визначення домішки В може проводитися як кількісне, наприклад, при дослідженнях стабільності. Тому організатори провели зовнішнє тестування на двох рівнях: як граничне і як кількісне випробування.

Згідно з рекомендаціями Таблиці 3 загальної статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань», невизначеність аналітичної методики не має перевищувати:

для граничного випробування — 16 % від допуску, тобто:

$$\max \Delta_{\text{Imp}} (\text{limit}) = 16 \times 5.0/100 = 0.80 \% \text{ абс},$$

для кількісного випробування — 5%, тобто:

$$\max \Delta_{\text{Imp}} (\text{assay}) = 5.0 \times 5.0/100 = 0.25 \% \text{ абс}.$$

Для проведення зовнішнього тестування лабораторій був атестований тестовий зразок лінкоміцину на вміст домішки В. Атестоване значення її вмісту дорівнює:

$$X_{\text{Assign}} = X_{\text{Attest}} = 3.17 \%$$

Оскільки тестування проводилося на двох рівнях вимог до невизначеності методики аналізу (0.80 % і 0.25 %), то невизначеність атестованого значення була незначущою порівнюючи з найбільш жорсткими-

Таблиця 8.8

Результати визначення домішки В лінкоміцину в тестовому зразку

№ п/п	Вміст домішки, %	$\pm \text{bias}$ 1) $\leq 0.80 \%$ 2) $\leq 0.25 \%$	№ п/п	Вміст домішки, %	$\pm \text{bias}$ 1) $\leq 0.80 \%$ 2) $\leq 0.25 \%$
1	3.17	0.00	19	3.08	-0.09
2	3.16	-0.01	20	3.26	0.09
3	3.16	-0.01	21	3.27	0.10
4	3.16	-0.01	22	3.05	-0.12
5	3.16	-0.01	23	3.04	-0.13
6	3.18	0.01	24	3.03	-0.14
7	3.18	0.01	25	3.31	0.14
8	3.19	0.02	26	3.01	-0.16
9	3.19	0.02	27	3.36	0.19
10	3.14	-0.03	28	3.36	0.19
11	3.20	0.03	29	3.37	0.20
12	3.13	-0.04	30	3.38	0.21
13	3.12	-0.05	31	3.38	0.21
14	3.22	0.05	32	<u>2.91</u>	<u>-0.26</u>
15	3.11	-0.06	33	<u>2.85</u>	<u>-0.32</u>
16	3.10	-0.07	34	<u>2.80</u>	<u>-0.37</u>
17	3.10	-0.07	35	<u>0.19</u>	<u>-2.98</u>
18	3.10	-0.07			
Середнє \bar{X}				3.07	
Стандартне відхилення s				0.52	
Критерій $3 \times s$				1.56	
Кориговане середнє $\bar{X}(\text{cor})$ (без № 35)				3.15	
Атестоване значення X_{Attest}				3.17	
$ \bar{X}(\text{cor}) - X_{\text{Attest}} $				0.02	$< \max \Delta_{\text{Imp}} = 0.08$

ми вимогами до методики аналізу, тобто відповідно до (6.23):

$$\Delta_{Attest} \leq \max \Delta_{Attest} = 0.32 \times \max \Delta_{Imp} (assay) = 0.32 \times 0.25 = 0.080 \%$$

Оцінка результатів учасників

Фактичні значення вмісту домішки В учасників оцінювалися на двох рівнях.

- 1) Здатність до граничного контролю домішки В методом ВЕРХ. У цьому випадку результати учасників (X_i) не мають відрізнятись ($bias_i$) від атестованого вмісту (X_{Attest}) більше ніж на $\max \Delta_{Imp} (limit) = 0.80 \%$, тобто відповідно до (6.16–6.17) маємо:

$$bias_i = |X_i - X_{Attest}| \leq 0.80 \%$$

Учасники, результати яких задовольняють ці вимоги, вважалися такими, що можуть коректно проводити граничне визначення домішки В методом ВЕРХ. Усі інші результати вважалися некоректними.

- 2) Здатність до кількісного визначення домішки В методом ВЕРХ. У цьому випадку результати учасників (X_i) не мають відрізнятись ($bias_i$) від атестованого вмісту (X_{Attest}) більше ніж на $\max \Delta_{Imp} (assay) = 0.25 \%$, тобто відповідно до (6.16–6.17), маємо

$$bias_i = |X_i - X_{Attest}| \leq 0.25 \%$$

Учасники, результати яких задовольняють цим вимоги, вважалися такими, що можуть коректно проводити граничне визначення домішки В методом ВЕРХ. Усі інші результати вважалися некоректними.

Оцінка результатів учасників зовнішнього тестування представлена в Табл. 8.8.

Як видно, результати учасника № 35 не відповідають вимогам як до граничного ($\leq 0.80 \%$), так і кількісного ($\leq 0.25 \%$) випробувань. Усі інші учасники відповідають вимогам до проведення граничного випробування.

Учасники № 32, 33, 34 і 35 (шрифт — італік і підкреслення) не відповідають вимогам до кількісного випробування ($\leq 0.25 \%$). Усі інші учасники відповідають вимогам до кількісного визначення домішки В методом ВЕРХ.

Виключення результатів, що випадають, і розрахунок метрологічних характеристик вибірки учасників

Як видно з Табл. 8.8, вимогам 3s-критерію (1.13) не відповідає тільки результат № 35 ($bias = 2.98 > 1.56 \%$), який був виключений з подальших розрахунків коригованого середнього $\bar{X}(cor)$.

Перевірка наявності систематичної похибки результатів учасників.

Згідно з вимогами (6.13), має виконуватися співвідношення

$$|\bar{X}(cor) - X_{Attest}| \leq \max \Delta_{Attest} = 0.08 \%$$

Як видно з Табл. 8.8, цей критерій витримується. Отже, результати учасників не обтяжені систематичною похибкою (зсувом результатів щодо атестованого значення), а саме атестоване значення є коректним.

Загальна характеристика якості результатів учасників

Згідно з Табл. 6.2, критична кількість некоректних результатів для кількості учасників $n = 35$ дорівнює $\mu = 5.6$. У нашому випадку кількість некоректних результатів для граничного випробування дорівнює $\mu = 1$, а для кількісного випробування $\mu = 4$. Отже, для обох випадків кількість некоректних результатів не є критичною.

9. РОЗРАХУНОК НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКИЛЬКОХ ВИПАДКОВИХ ЗМІННИХ

Наведені в попередніх розділах розрахунки довірчих інтервалів невизначеності методик аналізу застосовні лише в тому разі, якщо вимірювана величина (концентрація, вміст тощо.) є функцією тільки однієї випадкової змінної. Така ситуація зазвичай виникає при використанні прямих методів аналізу (титрування, визначення сульфатної золи, важких металів тощо). Однак більшість методик кількісного визначення у фармакопейному аналізі є непрямими, тобто використовують стандартні зразки. Отже, вимірювана величина є функцією як мінімум двох випадкових змінних — аналітичних сигналів (оптична густина, висота або площа піка тощо.) випробовуваного і стандартного зразків. Крім того, нерідко виникає проблема прогнозування невизначеності аналітичної методики, що складається з декількох стадій (зважування, розведення, кінцева аналітична операція), кожна з яких є проти іншої випадковою величиною.

Отже, виникає загальна проблема оцінки невизначеності непрямо вимірюваної величини, яка залежить від декількох вимірюваних величин, зокрема, як розраховувати невизначеність усієї аналітичної методики, якщо відомі невизначеності окремих її складових (стадій)?

Якщо вимірювана у випробуванні величина y є функцією n незалежних випадкових величин x_i , тобто

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n),$$

і число ступенів свободи величин x_i однакові або досить великі (> 30 , щоб можна було застосовувати статистику Гауса, а не Стюдента), дисперсія величини y пов'язана з дисперсіями величин x_i співвідношенням (правило поширення невизначеностей):

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times s_{x_i}^2 \quad (9.2)$$

Однак на практиці ступені свободи величин x_i зазвичай невеликі та нерівні один одному. Крім того, зазвичай інтерес становлять не самі дисперсії (стандартні відхилення), а довірчі інтервали, обчислити які, використовуючи рівняння (9.2) при невеликих і неоднакових ступенях свободи, неможливо. Тому для розрахунку невизначеності величини y (Δ_y) запропоновані різні підходи, серед яких можна виділити два основних: лінійна модель і підхід Уелча-Сатертуейта.

9.1. ЛІНІЙНА МОДЕЛЬ

Якщо випадкові змінні x_i статистично незалежні, довірчий інтервал невизначеності функції Δ_y зв'язаний із довірчими інтервалами змінних Δ_{x_i} співвідношенням (довірчі інтервали беруть для тієї самої імовірності):

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times \Delta_{x_i}^2, \quad (9.3)$$

Дане співвідношення є узагальненням співвідношення (9.2).

У фармакопейному аналізі вимірювана величина y являє собою зазвичай добуток чи частку випадкових і постійних величин (мас наважок, розведень, оптичних густин або площ піків тощо.), тобто (K — певна константа):

$$y = \frac{K \times x_1 \times x_2 \times \dots \times x_n}{x_{n+1} \times x_{n+2} \times \dots \times x_m}. \quad (9.4)$$

У цьому випадку співвідношення (9.3) набуває вигляду:

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n \Delta_{x_i}^2, \quad (9.5)$$

де використані відносні довірчі інтервали.

У деяких випадках вимірювана величина y являє собою суму або різницю випадкових і постійних величин, тобто (K_i — певні константи):

$$y = \sum_{i=1}^n K_i \times x_i. \quad (9.6)$$

У цьому випадку співвідношення (9.3) набуває вигляду:

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n K_i^2 \times \Delta_{x_i}^2, \quad (9.7)$$

де використані абсолютні довірчі інтервали.

Співвідношення (9.5, 9.7) застосовні при будь-яких ступенях свободи (зокрема і нескінченних) для величин x_i . Їхньою перевагою є простота та наочність. Використання абсолютних довірчих інтервалів призводить до набагато більш громіздких виразів, тому рекомендується використовувати відносні величини.

При проведенні фармакопейного аналізу в сумарній невизначеності ($\Delta_{A_s,r}$) аналізу зазвичай завжди можна виділити такі типи невизначеностей: невизначеність пробопідготовки ($\Delta_{SP,r}$), невизначеність кінцевої аналітичної операції ($\Delta_{FAO,r}$) і невизначеність атестації стандартного зразка ($\Delta_{RS,r}$). Величина $\Delta_{RS,r}$ зазвичай настільки мала, що нею можна знехтувати. Із огляду на це, а також на те, що аналіз проводиться і для випробовуваного розчину (індекс «*smp*»), і для розчину порівняння (індекс «*st*»), вираз (9.5) можна навести у вигляді:

$$\Delta_{A_s,r} = \sqrt{[(\Delta_{SP,r}^2) + (\Delta_{FAO,r}^2)] + [(\Delta_{ST,r}^2) + (\Delta_{SMP,r}^2)]}. \quad (9.8)$$

При цьому кожний із доданків обчислюють із його складових компонентів за формулою (9.5).

Якщо число ступенів свободи величин x_i однакове або досить велике (> 30), вираз (9.5) дає

$$s_{x_i}^2 = \sum_{i=1}^n s_{x_i}^2. \quad (9.9)$$

Це саме співвідношення за тих самих умов одержують із виразу (9.2).

9.1.1. Зважене середнє. Слід зазначити, що в межах лінійної моделі (9.3) можна одержати зважене середнє декількох нерівноточних вибірок різних генеральних сукупностей, використовуючи як ваги квадрати відповідних довірчих інтервалів. Якщо мають g вибірових середніх \bar{x}_k різних генеральних сукупностей, одержаних із невизначеностями $\Delta_{\bar{x}_k}$, середнє цих вибірок \bar{x} визначають із співвідношення:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x}_k}^2) \times \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x}_k}^2)}. \quad (9.10)$$

Абсолютний довірчий інтервал $\Delta_{\bar{x}}$ цього зваженого середнього визначається із співвідношення:

$$\Delta_{\bar{x}}^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x}_k}^2)}. \quad (9.10a)$$

Якщо число ступенів свободи вибірових середніх \bar{x}_k однакове або досить велике (> 30), вираз (9.10) дає:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x}_k}^2) \times \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x}_k}^2)}, \quad (9.11)$$

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x}_k}^2)}, \quad (9.11a)$$

де $s_{\bar{x}_k}^2$ — дисперсія одиничного результату k -тої вибірки.

Відзначимо, що окремий випадок (9.11) набагато менш застосовний, ніж загальне співвідношення (9.10).

Вибіркові середні \bar{x}_i зазвичай близькі між собою і до зваженого середнього \bar{x} , тому у співвідношеннях (9.10) і (9.10a) замість абсолютних довірчих інтервалів можуть бути використані відносні довірчі інтервали, а в співвідношеннях (9.11) і (9.11a) замість абсолютних дисперсій — відносні дисперсії.

Якщо вибірки являють собою, наприклад, результати аналізу тієї самої речовини в різних лабораторіях, іноді виникає необхідність оцінити середню невизначеність аналізу цієї речовини по всіх лабораторіях. У цьому разі не зовсім коректно будь-яким чином усереднювати довірчі інтервали $\Delta_{\bar{x}_i}$, оскільки вони залежать від кількості аналізів і теоретично можуть бути одержані як завгодно малими збільшенням числа випробувань. Більш коректно оцінювати міжвибіркове відносне стандартне відхилення. Для цього можуть бути використані співвідношення (1.14b) і (1.15). Слід зазначити, що в цьому разі одержане міжвибіркове відносне стандартне відхилення не є оцінкою якогось «генерального стандартного відхилення», а являє собою просто деяку середню величину.

9.2. ПІДХІД УЕЛЧА — САТЕРТУЕЙТА

У цьому підході дисперсію величини y (s_y^2) розраховують за співвідношенням (9.2), не зважаючи на розходження у ступенях свободи (v_i) величин x_i . Для одержаної дисперсії s_y^2 розраховують деяке «ефективне» число ступенів свободи v_{eff} (яке зазвичай є дробовим), на основі якого потім за таблицями для заданої імовірності інтерполяцією знаходять коефіцієнт Стьюдента. На основі його далі звичайним шляхом розраховують довірчий інтервал величини y (Δ_y).

$$v_{eff} = \frac{s_y^2}{\sum_{i=1}^n \frac{\left(\frac{\partial y}{\partial x_i}\right)^2 \times s_{x_i}^2}{v_i}} \quad (9.12)$$

У фармакопейному аналізі для визначуваної величини y зазвичай виконується рівняння (9.4). У цьому разі в підході Уелча — Сатертуейта співвідношення (9.2) переходить у вираз (9.9), і співвідношення (9.12) набуває більш простого вигляду:

$$v_{eff} = \frac{s_{y,r}^2}{\sum_{i=1}^n \frac{s_{x_i,r}^2}{v_i}} \quad (9.13)$$

де величину $s_{y,r}^2$ розраховують із співвідношення (9.9).

Підхід Уелча — Сатертуейта звичайно дає більш вузькі довірчі інтервали, ніж лінійна модель. Однак він набагато складніший у застосуванні і не дозволяє виділити невизначеність різних етапів (із подальшими рекомендаціями щодо їх мінімізації) так просто, як лінійна модель у формі виразу (9.8). Крім того, на відміну від лінійної моделі, підхід Уелча — Сатертуейта може давати суперечливі результати у тому випадку, коли величини $s_{x_i,r}$ рівняння (9.13) мають одночасно дуже малі ($v = 1 - 3$) і дуже великі (безкінечні) ступені свободи.

При прогнозі невизначеності аналізу використовуються генеральні величини (із нескінченним числом ступенів свободи). У цьому разі підхід Уелча — Сатертуейта збігається з лінійною моделлю.

9.3. ПРИКЛАДИ РОЗРАХУНКІВ НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКИЛЬКОХ ЗМІННИХ

9.3.1. Розрахунок невизначеності аналізу готового лікарського засобу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)

У таблетці із середньою масою 0.50 г міститься 0.050 г речовини А. У процесі проведення кількісного визначення методом ВЕРХ наважку $m = 0.5052$ г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять розчинником до позначки. Паралельно готують розчин порівняння: 0.0508 г стандартного зразка поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм розчину розчинником до позначки. Попеременно хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння, одержуючи по 5 хроматограм кожного розчину. Нижче наведені площі одержаних піків.

9.3.1.1. Кінцева аналітична операція

Розраховують середні значення, вміст речовини А в одній таблетці і відносні стандартні відхилення площ піків для випробовуваного розчину і розчину порівняння в кінцевій аналітичній операції.

а) Середні значення площ піків:

Таблиця 9.1

	Площі піків (S_i і S_n) для хроматограм				
	1	2	3	4	5
Випробовуваний розчин	13957605	13806804	13924245	13715195	14059478
Розчин порівняння	14240777	14102192	14316388	14205217	14409585

Випробовуваний розчин: $(13957605 + 13806804 + 13924245 + 13715195 + 14059478) / 5 = 13892665$.

Розчин порівняння: $(14240777 + 14102192 + 14316388 + 14205217 + 14409585) / 5 = 14254832$.

b) Вміст аналізованої речовини А, у грамах, у пере-рахунку на середню масу таблетки:

$$X = \frac{S \times m_r \times 50 \times 0.5}{S^* \times m \times 50} = \frac{13892665 \times 0.0508 \times 50}{14254832 \times 0.5052 \times 50} = 0.0490.$$

c) Відносні стандартні відхилення площ піків:

Випробовуваний розчин:

$$RSD = \frac{100}{13892665} \times \sqrt{\frac{(13957605 - 13892665)^2 + (13806804 - 13892665)^2 + (13924245 - 13892665)^2 + (13715195 - 13892665)^2 + (14059478 - 13892665)^2}{4}} = 0.97\%.$$

Аналогічно для розчину порівняння:

$$RSD^* = 0.81\%.$$

9.3.1.2. Сумарна невизначеність пробопідготовки $\Delta_{SP,r}$

Відповідно до загальної статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань», невизначеності не мають перевищувати для:

- мірної колби місткістю 50 мл — 0.17 %;
- зважування на аналітичних вагах — 0.2 мг (0.0002 г), що становить:
 - $100 \times 0.0002 / 0.5052 = 0.04\%$ для випробовуваного зразка;
 - $100 \times 0.0002 / 0.508 = 0.39\%$ для стандартного зразка.

Дані невизначеності можна вважати довірчими інтервалами для ймовірності 95 %.

Сумарну невизначеність пробопідготовки обчислюють за формулою (9.5):

$$\Delta_{SP,r} = \sqrt{(0.04^2 + 0.39^2) + (0.17^2 + 0.17^2)} = 0.46\%.$$

Відзначимо, що такий розрахунок є коректним для обох підходів — лінійної моделі та підходу Уелча — Сатертуейта: оскільки число ступенів свободи для кожного члена тут нескінченне, використовується статистика Гауса.

9.3.1.3. Розрахунок сумарної невизначеності аналізу $\Delta_{As,r}$

Даний розрахунок відрізняється для лінійної моделі та підходу Уелча — Сатертуейта.

a) Лінійна модель

Загальний випадок. Розраховують невизначеність кінцевої аналітичної операції $\Delta_{FAO,r}$ для випробовуваного розчину та розчину порівняння. При розрахунку довірчих інтервалів використовують однобічний коефіцієнт Стьюдента для ймовірності 95 % (= 90 % для двобічного розподілу), що для числа ступенів свободи $5 - 1 = 4$ дорівнює 2.13. Довірчі інтервали розраховують для середнього із 5 результатів, тому в знаменнику маємо $\sqrt{5}$:

$$\Delta_{FAO,r}^{mp} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%, 4) \times RSD = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 2.13 \times 0.97 = 0.92\%.$$

$$\Delta_{FAO,r}^* = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%, 4) \times RSD^* = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 2.13 \times 0.81 = 0.77\%.$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції:

$$\Delta_{FAO,r} = \sqrt{(\Delta_{FAO,r}^{mp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^*)^2} = \sqrt{(0.92)^2 + (0.77)^2} = 1.20\%.$$

Використовуючи рівняння (9.8), розраховують сумарну невизначеність аналізу $\Delta_{As,r}$:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.20^2} = 1.29\%.$$

Використання об'єднаного стандартного відхилення. Сумарну невизначеність аналізу можна зменшити за рахунок використання об'єднаного стандартного відхилення для кінцевої аналітичної операції. Для цього слід врахувати, що RSD_{smp} і RSD_{st} зазвичай є вибірковими величинами тієї самої генеральної сукупності.

Перевіряють спочатку із використанням критерію Фішера (див. розділ 2.1) гіпотезу про рівність дисперсій:

$$\frac{RSD_{smp}^2}{RSD_{st}^2} = \frac{0.97^2}{0.81^2} = 1.434 < 6.388 = F(F = 95\%; 4; 4).$$

Як видно, розраховане значення відношення дисперсій значно нижче табличного значення F -критерію на 95 % рівні значущості. Тому можна прийняти гіпотезу про рівність дисперсій і використати формули розділу 1.3 для об'єднання вибірок.

Розраховують об'єднане стандартне відхилення за рівнянням (1.14b):

$$RSD_p = \sqrt{[(0.97)^2 + (0.81)^2] / 2} = 0.89\%.$$

Згідно з рівнянням (1.15), RSD_p має число ступенів свободи $2 \times (5 - 1) = 8$. Коефіцієнт Стьюдента для даного числа ступенів свободи й однобічної ймовірності 0.95 дорівнює 1.86.

Тоді довірчі інтервали невизначеності кінцевої аналітичної операції для випробовуваного і стандартного розчинів будуть рівними:

$$\Delta_{\text{RSD},r}^{\text{exp}} = \Delta_{\text{RSD},r}^{\text{st}} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%; 8) \times \text{RSD} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 1.86 \times 0.89 = 0.74\%$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції дорівнює:

$$\Delta_{\text{RSD},r} = \sqrt{(\Delta_{\text{RSD},r}^{\text{exp}})^2 + (\Delta_{\text{RSD},r}^{\text{st}})^2} = \sqrt{(0.74)^2 + (0.74)^2} = 1.05\%$$

Використовуючи рівняння (9.8), обчислюють сумарну невизначеність аналізу $\Delta_{A_s,r}$:

$$\Delta_{A_s,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.05^2} = 1.15\%$$

Як бачимо, дана величина (1.15 %) менша за одержану для звичайного випадку (1.29 %).

б) Підхід Уелча — Сатертуейта

Знаходять стандартне відхилення пробопідготовки з довірчого інтервалу $\Delta_{SP,r} = 0.46\%$ (див. п. 9.3.1.1), використовуючи коефіцієнт Гауса 1.65 для однієї імовірності 0.95 (оскільки число ступенів свободи нескінченне — як для генеральної сукупності):

$$s_{sp,r} = 0.46/1.65 = 0.28\%$$

Із співвідношення (9.9) знаходять стандартне відхилення всієї аналітичної методики (величини RSD^2 і $(RSD^{\text{st}})^2$ ділять на 5 як для дисперсій середнього результату.

$$s_{A_s,r} = \sqrt{s_{sp,r}^2 + \frac{1}{5}[RSD^2 + (RSD^{\text{st}})^2]} = \sqrt{0.28^2 + \frac{1}{5} \times (0.97^2 + 0.81^2)} = 0.63$$

Знаходять ефективне число ступенів свободи v_{eff} . При цьому для RSD і RSD^{st} число ступенів свободи дорівнює $5 - 1 = 4$, а для $s_{sp,r}$ — нескінченність.

$$v_{\text{eff}} = \frac{s_{A_s,r}^4}{\frac{s_{sp,r}^4}{\infty} + \frac{RSD^4}{5^2 \times 4} + \frac{(RSD^{\text{st}})^4}{5^2 \times 4}} = \frac{0.63^4}{0 + \frac{1}{100} \times (0.97^4 + 0.81^4)} = 12.0$$

За Табл. 10.2 знаходять коефіцієнт Стюдента для числа ступенів свободи 12.0 і однієї імовірності 0.95. Це 1.78. Тоді довірчий інтервал всієї аналітичної методики становить:

$$\Delta_{A_s,r} = 1.78 \times 0.63 = 1.12\%$$

Як бачимо, довірчий інтервал, розрахований за підходом Уелча — Сатертуейта (1.12 %), дещо вуж-

чий, ніж для звичайного випадку лінійної моделі (1.29 %), і практично співпадає при використанні об'єднаного стандартного відхилення (1.15 %).

9.3.2. Прогноз невизначеності спектрофотометричного аналізу готового лікарського засобу

За таких прогнозів завжди використовуються генеральні величини, тому застосовується статистика Гауса. Зазвичай використовується коефіцієнт Гауса 1.65 для однієї імовірності 0.95.

При проведенні спектрофотометричного кількісного визначення готового лікарського засобу (ГЛС) беруть номінальні наважки близько $m = 0.50$ г (ГЛС) і близько $m_{st} = 0.050$ г (стандартний зразок). Використовують однакові розведення для випробовуваного розчину і розчину порівняння: наважка → 50 мл (мірна колба); 1 мл (піпетка) одержаного розчину → 100 мл (мірна колба). Спектрофотометрична невизначеність оптичної густини (за паспортом приладу) $s_r = 0.2\%$, кюветна невизначеність (експериментально знайдена) $s_{cell,r} = 0.1\%$. Передбачається, що буде проводитися 3-разове вимірювання оптичної густини випробовуваного розчину та розчину порівняння з вийманням кювети. Слід провести прогноз невизначеності аналізу.

1) Спочатку знаходять невизначеність пробопідготовки. Згідно із загальною статтею 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» невизначеності не мають перевищувати для:

- зважування на аналітичних вагах — 0.2 мг (0.0002 г), що становить $100 \times 0.0002/0.5 = 0.04\%$ для випробовуваного зразка і $100 \times 0.0002/0.050 = 0.40\%$ для стандартного зразка;
- мірної колби місткістю 50 мл — 0.17 %;
- мірної колби місткістю 100 мл — 0.12 %;
- піпетки місткістю 1 мл — 0.6 %.

Повна невизначеність пробопідготовки становить (із урахуванням випробовуваного розчину та розчину порівняння):

$$\Delta_{SP,r} = \sqrt{(0.04^2 + 0.40^2) + (0.17^2 + 0.17^2) + (0.12^2 + 0.12^2) + (0.6^2 + 0.6^2)} = 0.98\%$$

Отже, основний внесок у невизначеність пробопідготовки дає піпетка малого об'єму (0.6 %) і мала наважка 0.05 г (0.4 %).

2) Знаходять невизначеність кінцевої аналітичної операції (спектрофотометрії). Коефіцієнт 2 враховує наявність випробовуваного розчину і розчину порівняння:

$$\Delta_{RSD,r} = 1.65 \times \sqrt{\frac{2 \times (s_{sp,r}^2 + s_{st,r}^2)}{3}} = 1.65 \times \sqrt{\frac{2 \times (0.2^2 + 0.1^2)}{3}} = 0.30\%$$

Лабораторія	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
\bar{x}_k % абс.	10.8	10.6	11.2	11.1	10.9	11.1	10.5	10.8	11.0	11.2
Δ_{x_k} % абс.	0.32	0.21	0.65	0.45	0.25	0.32	0.19	0.34	0.42	0.58

3) Обчислюють за формулою (9.8) повну прогнозовану невизначеність аналізу:

$$\Delta_{\bar{x}} = \sqrt{0.98^2 + 0.30^2} = 1.03\%$$

Як бачимо, основний внесок у повну невизначеність аналізу дає пробопідготовка (0.98 %).

9.3.3. Розрахунок середнього значення декількох нерівноточних вибірок

У результаті міжлабораторного експерименту отримані такі результати кількісного аналізу якогось готового лікарського засобу.

Яке середнє значення вмісту діючої речовини має лікарський засіб за даними міжлабораторного експерименту?

Результати аналізу в різних лабораторіях не можна вважати вибірками з однієї генеральної сукупності, навіть якщо вони отримані з використанням одного методу, наприклад ВЕРХ. Це пов'язано з тим, що метрологічні характеристики приладів у різних лабораторіях різні. Зокрема, хроматографи можуть мати істотно різні генеральні дисперсії збіжності хроматографічного сигналу, пов'язані як із приладовими факторами, так і з відмінностями колонок і умов аналізу. Тому рівняння (1.16) тут не застосовне. Не застосовне і рівняння (9.11) — число ступенів

свободи, як правило, невелике і неоднакове. Тому застосовують співвідношення (9.10):

$$\begin{aligned} \bar{x} &= \frac{\frac{10.8}{0.32^2} + \frac{10.6}{0.21^2} + \frac{11.2}{0.65^2} + \frac{11.1}{0.45^2} + \frac{10.9}{0.25^2} + \frac{11.1}{0.32^2} + \frac{10.5}{0.19^2} + \frac{10.8}{0.34^2} + \frac{11.0}{0.42^2} + \frac{11.2}{0.58^2}}{\frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.21^2} + \frac{1}{0.65^2} + \frac{1}{0.45^2} + \frac{1}{0.25^2} + \frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.19^2} + \frac{1}{0.34^2} + \frac{1}{0.42^2} + \frac{1}{0.58^2}} \\ &= \frac{1189.89}{110.51} = 10.77\% \end{aligned}$$

Для порівняння: звичайне (незважене) середнє значення, обчислене за формулою (1.2), становитиме 11.92 %, тобто на 11.92–10.77 = 1.15 % вище.

Відповідно до співвідношення (9.10а), абсолютний довірчий інтервал цього зваженого середнього дорівнює:

$$\Delta_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{110.51}} = 0.095\%$$

Як видно, ця величина суттєво менше будь-якого окремого довірчого інтервалу Δ_{x_k} .

10. ДОДАТОК⁽¹⁾

Числові значення контрольного критерію $Q(P_1, n)$

Таблиця 10.1

n	Q		
	$P_1 = 90\%$	$P_1 = 95\%$	$P_1 = 99\%$
3	0.89	0.94	0.99
4	0.68	0.77	0.89
5	0.56	0.64	0.76
6	0.48	0.56	0.70
7	0.43	0.51	0.64
8	0.40	0.48	0.58
9	0.38	0.46	0.55

(1) Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. — М.: Наука, 1983. — 415 с.

Таблиця 10.2

Числові значення коефіцієнта Стьюдента $t(P, \nu)$

$P_1 \rightarrow$	Імовірність P_1 або P_2					
	95 %	97.5 %	99 %	99.5 %	99.9 %	99.95 %
$P_2 \rightarrow$	90 %	95 %	98 %	99 %	99.8 %	99.9 %
Число ступенів свободи $\nu \downarrow$	Значення $t(P, \nu)$					
1	6.3138	12.7062	31.8205	63.6567	318.31	636.619
2	2.9200	4.3027	6.9646	9.9248	22.3271	31.5991
3	2.3534	3.1824	4.5407	5.8409	10.2145	12.9240
4	2.1318	2.7764	3.7469	4.6041	7.1732	8.6103
5	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321	5.8934	6.8688
6	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074	5.2076	5.9588
7	1.8946	2.3646	2.9980	3.4995	4.7853	5.4079
8	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554	4.5008	5.0413
9	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	4.2968	4.7809
10	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	4.1437	4.5869
11	1.7956	2.2010	2.7181	3.1058	4.0247	4.4370
12	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545	3.9296	4.3178
13	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123	3.8520	4.2208
14	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768	3.7874	4.1405
15	1.7530	2.1314	2.6025	2.9467	3.7328	4.0728
16	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208	3.6862	4.0150
17	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982	3.6458	3.9651
18	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784	3.6105	3.9216
19	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609	3.5794	3.8834
20	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453	3.5518	3.8495
21	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314	3.5272	3.8193
22	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188	3.5050	3.7921
23	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073	3.4850	3.7676
24	1.7109	2.0639	2.4922	2.7969	3.4668	3.7454
25	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874	3.4502	3.7251
26	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787	3.4350	3.7066
27	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707	3.4210	3.6896
28	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633	3.4082	3.6739
29	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564	3.3962	3.6594
30	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500	3.3852	3.6460
40	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045	3.3069	3.5510
50	1.6759	2.0086	2.4033	2.6778	3.2614	3.4960
100	1.6602	1.9840	2.3642	2.6259	3.1737	3.3905
∞	1.6479	1.9647	2.3338	2.5857	3.1066	3.3101

P_1 — імовірність знаходження справжнього значення величини (μ) в інтервалі $\bar{x} - \Delta_x \leq \mu \leq \infty$ або $-\infty \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x$ (однобічний розподіл).

P_2 — імовірність знаходження справжнього значення величини (μ) в інтервалі $-\Delta_x \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x$ (двобічний розподіл).

Відсоткові точки розподілу $\chi^2(P_1, \nu)$

ν	$P_1 = 95 \%$	$P_1 = 99 \%$		ν	$P_1 = 95 \%$	$P_1 = 99 \%$
1	3.841	6.635		11	19.675	24.725
2	5.991	9.210		12	21.026	26.217
3	7.815	11.345		13	22.362	27.688
4	9.488	13.277		14	23.685	29.141
5	11.070	15.086		15	24.996	30.578
6	12.592	16.812		16	26.296	32.000
7	14.067	18.475		20	31.410	37.566
8	15.507	20.090		25	37.652	44.314
9	16.919	21.666		30	43.773	50.892
10	18.307	23.209		40	55.758	63.691

P_1 — імовірність того, що оцінюване значення χ^2 не перевищує табличне. Це оцінюване значення розглядається як значуще ($P_1 = 95 \%$) або високозначуще ($P_1 = 99 \%$).